

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

جامعة 8 ماي 1945 قالة

Université 8 Mai 1945 Guelma

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Sciences de la terre et de l'Univers



Handwritten signature of Ayed H.

Mémoire En Vue de l'Obtention du Diplôme de Master

Domaine: S.N.V

Spécialité/Option: Biologie- Santé et Hygiène Hospitalière

Département: Biologie



Thème

**Isolement et identification des bactéries responsables des infections nosocomiales
au niveau de service des urgences de l'hôpital El Hakim Okbi**

Présenté par :

Mebarki Mohamed Lamine

Kedadra Youcef

Diakaridia Keita

Devant la commission composée de :

Benouareth D.E

Ayed H

Merabet R

Aboudoui W

Braik A

Boussadia M

Président

Encadreur

Examineur

Membre

Membre

Membre

Université de Guelma

Université de Guelma

Université de Guelma

Université de Guelma

Université de Guelma

Université de Guelma

Juin 2017

Remerciements

Au terme de ce mémoire nous tenons à remercier en premier lieu Dieu, le miséricordieux, qui nous a donné la force, volonté et courage tout au long de l'élaboration de ce travail.

Nous tenons à remercier chaleureusement M^{me} Ayed H maître-assistant à l'université 08 Mai 1945 Guelma en tant que promotrice de mémoire, s'est toujours montrée à l'écoute et très disponible tout au long de la réalisation de ce mémoire.

Nous tenons à exprimer notre reconnaissance envers M^{me} Merabet R maître-assistant à l'université 08 Mai 1945 Guelma qui a eu la gentillesse de lire et d'examiner ce travail.

Nous voulons exprimer nos remerciements les plus sincères au:

M. Benouarth D.E maître de conférence à l'université 08 Mai 1945 Guelma en étant président du jury.

Nous aimerions exprimer notre gratitude et nos remerciements à tous les membres de jury.

Nos vifs remerciements à tous mes professeurs de notre département de biologie qui ont contribué à ma formation notre premier cycle d'étude jusqu'à la fin de notre cycle universitaire.

Enfin, nous adressons nos remerciements à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce modeste travail.

Merci à toutes et à tous.

Dédicaces

Je dédie ce travail :

- *Mon dieu qui me donne tous : la santé, Savoir et la patience...*
- *A Mes très chères parents Abd elhamid, et Nadia qui me donnent Le courage et me guident dans ma vie.
Particulièrement dans les moments les plus difficiles et leurs sacrifices.*
- *A Mon frère Ahmed et ma sœur Fatima, et toute la famille : KEDADRA ET ZAIDI sans exception.*
- *Les enfants : AHLEM, AMIR, RAOUF, RIDA, LAILA, AYMEN, MOHAMED, ADAM, JAMIL et SIF DIN.*
- *A meilleurs amis : AMINE MESSADIA, Zaka, Karim, Mahdi, Chamsou, Samir ET SURTOUT Aïssa*
- *A tous les enseignants qui ont participé dans ma formation.*

Ainsi qu'à tous les collègues de la promotion BSHH 2017

‣ *YOUCEF*

Je remercie tout d'abord Dieu <<le tout puissant >> de m'avoir donné les moyens et la force de pouvoir réaliser ce modeste travail

Je dédie ce travail :

A mes parents, surtout à ma mère qui m'a donnée la chance de pouvoir poursuivre mes études universitaires en Algérie. Vous m'avez appris que la vie n'est jamais facile et qu'il faut se battre pour pouvoir s'offrir une bonne place et un avenir dans cette vie, merci à vous de m'avoir appris que seul la persévérance, le courage, le travail et la volonté me seront les outils indispensables dans ma réussite

A mes frères, sœurs, oncles et tantes en témoignage de gratitude pour vos soutiens

A toute la famille Keita

A tous mes enseignants depuis le primaire à l'université pour l'éducation que vous m'avez donnée tout au long de mes études surtout à Madame Braïk de son encouragement et de son soutien et à Madame Ayed de m'avoir fait l'honneur de son encadrement tout au long de ce projet

A mes amis et surtout à ceux d'Algérie qui ont été des frères et sœurs pour moi ainsi que ma nouvelle famille

Je vous remercie toutes et tous du plus profond de mon cœur.

❖ *keita*

Je dédie ce travail :

❧ *Mon dieu qui me donne tous : la santé. Savoir et la patience...*

❧ *A Mes très chères parents EL HADI et Ghafia qui me donnent Le courage et me guident dans ma vie.*

Particulièrement dans les moments les plus difficiles et leurs sacrifices.

❧ *A Mon frère HAMZA et mes sœurs IMEN, et toute la famille : MEBARKI ET MESSADIA sans exception.*

❧ *Les enfants : ANFAL, AHMED WASSIM, LOULAI, LINDA, YUCEF, MARWANE, ANES, JASEM et SIF ALLAH.*

❧ *A meilleurs amis : AMINE MESSADIA, Zaki, Oussama, Youcef, Keita, MADY, BOUBACER ET SURTOUT SAYOUDI BOUZOU NASS ACHI HAMZA, SAID, ILIAS, BILAL, et Lotfi*

❧ *A tous les enseignants qui ont participé dans ma formation.*

❖ *Mohamed*

SOMMAIRE

Liste des figures	
Liste des tableaux	
Liste des abréviations	
Introduction	

I :Partie bibliographique

Chapitre I : Les infections nosocomiales

1-Historique	2
2-Définition des IN	3
3-Prévalence et conséquences	6
4-Facteurs favorisant les infections nosocomiales	6
5-Chaine d'infection	7
5-1-Source	7
a) Homme	7
b) L'environnement	7
5-2-L'hôte	8
5-3- Transmission	8
5-3-1 : Mode de transmission	10
A/-Auto-infection	10
B/-Hétéro – infection	10
C/-Xéno – infection	10
D/-Exo infection	10
6-Les types d'infections nosocomiales	11
6-1-Infections urinaires	11
6-2-Infections du site opératoire	11
6-3-Pneumopathies nosocomiales	12
6-4-Les infections sur cathéter	12
6-5-Bactériémies nosocomiales	13
6-6- Autres infections nosocomiales	13

Chapitre II : Les agents responsables d'infections nosocomiales

1-Les agents responsables d'infections nosocomiales	15
1-1-Les virus	15
1-2-Les parasites	15
1-3-Les champignons	15

1-4-Les bactéries	16
a) Les bactéries commensales	16
b) Les bactéries pathogènes	16
1-4-1-Les bactéries à gram négatif	16
A- <i>Escherichia Coli</i>	16
B- <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	17
C- <i>Acinetobacter</i>	18
D- <i>Klebsiella</i>	19
E- <i>Enterobacter</i>	19
1-4-2-Les bactéries à gram positif.....	19
A-Les staphylocoques.....	19
B-Les Streptocoques.....	21
2-La résistance bactérienne.....	23
a) Résistance naturelle.....	23
b) Résistance acquise.....	23
2-1-La résistance des principaux groupes.....	23
2-1-1- Résistance des <i>Staphylocoques</i>	23
2-1-2-Résistance des <i>Streptocoques</i>	24
2-1-3- Résistance d' <i>Acinetobacter</i>	24
2-1-4-Résistance de <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	25
2-1-5- Résistance d' <i>E.coli</i>	25
2-1-6- Résistance des <i>Klebsiella</i>	25
2-1-7- Résistance d' <i>Enterobacter</i>	26

Chapitre III : Surveillance et prévention des infections nosocomiales.

1-Surveillance des infections nosocomiales	27
1-1- Objectifs	27
1-2- Stratégie	27
2- La prévention des infections nosocomiales	28
2-1- Réduction de la Transmission de personne à personne	29
2-1-1- Décontamination des mains	29
2-1-2- Hygiène personnelle	29
2-1-3- Tenue	29
2-1-4- Masques	29
2-1-4- Gants	30
2-2- Prévention de la transmission par l'environnement	30
2-2-1- Nettoyage de l'environnement hospitalier	30

2-2-2- La désinfection	31
2-2-3 - La stérilisation	31
2-2-4- Asepsie	32
2-2-5- Antiseptie	32
2-3- Mesures spécifiques de prévention	32
2-3-1-Prévention des infections urinaires nosocomiales	32
2-3-2- Prévention des pneumonies nosocomiales	33
2-3-3- Prévention des infections des plaies opératoires	33
2-3-4- Prévention des infections sur cathéter	34

II : partie expérimental

Chapitre : matériels et méthodes

1-Cadre d'étude.....	35
2-Méthodologie de travail	35
2-1-prélèvement	35
2-2-Enrichissement	36
2-3-Isolément et purification des souches bactériennes.....	36
2-4- Identification	37
2-4-1-Identification macroscopique.....	37
2-4-2- Identification microscopique	37
2-4-3 -Etudes des caractères biochimiques	39
2-4-3-1 : Identification des entérobactéries	39
2-4-3-2- Identification des Pseudomonas	43
2-4-3-3- Identification des Staphylocoques	44
2-5- Antibiogramme	48

Chapitre II : Résultats et Discussion

1-Résultats.....	50
2-Discussion.....	62

Conclusion

Annexe

Références bibliographique

Résumé

Abstract

ملخص

Liste des Figures

Nombre	Titre de la figure	Page
N° 01	Transmission endogène.	4
N° 02	Transmission exogène	5
N° 03	Transmission d'infection nosocomiale	9
N° 04	proportions des principales infections nosocomiales	14
N° 05	Principales bactéries impliquées dans les IN	22
N° 06	Aspect du milieu TSI avant et après l'incubation.	41
N° 07	Aspect du milieu Citrates de Simmons avant et après l'incubation.	41
N° 08	Aspect du milieu de Mannitol Mobilité avant et après l'incubation.	42
N° 09	Aspect du milieu d'Urée Indole avant et après l'incubation.	42
N° 10	Aspect des milieux King A et King B avant et après l'incubation.	43
N° 12	Galerie Api Staph.	44
N° 13	Préparation de l'inoculum des <i>staphylocoques</i> .	45

N° 14	Test de catalase.	46
N° 15	Test de coagulase.	46
N° 16	Récapitulatif de la méthodologie de travail.	47
N° 1	Résultats de l'enrichissement	50
N° 18	Observation macroscopique des bactéries isolées sur GN.	52
N° 19	Observation macroscopique des bactéries isolées sur MC.	52
N° 20	Observation macroscopique des bactéries isolées sur CHP.	52
N° 21	Bacille a Gram -	53
N° 22	Cocci a Gram +.	53
N° 23	Galerie biochimique classique pour <i>E.Coli</i>	54
N° 24	Galerie biochimique classique pour <i>Proteus vulgaris</i>	55
N° 25	Galerie biochimique classique pour <i>Shigella</i>	55
N° 26	<i>Staphylococcus aureus</i>	57

N°27	<i>Staphylococcus Epidermidis</i>	57
N°28	Production de catalase par les cocci à Gram positif isolés.	57
N°29	Observation du test de coagulase libre (coagulase négative)	58
N°30	Observation du test de coagulase libre (coagulase positive)	58
N°31	Résultats du test d'antibiogramme pour <i>E. coli</i> et <i>P. aeruginosa</i>	59
N°32	Résultat du test d'antibiogramme pour <i>Staphylococcus aureus</i> .	59
N°33	Fréquence des souches.	61

Produced With Scantopdf

Liste des tableaux

Nombre	Titre de tableau	Page
N° 01	Milieux et matériel utilisé	35
N° 02	Numéro des sites de prélèvement	36
N° 03	Matériel utilisé dans la méthode de la coloration de Gram	38
N° 04	Caractéristiques de la galerie biochimique classique.	39
N° 05	Liste d'antibiotiques utilisée.	49
N° 06	Observation macroscopique.	50
N° 07	Observation microscopique.	53
N° 08	Identification biochimique.	54
N° 09	Identification de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .	56
N° 10	Résultats du test d'antibiogramme pour <i>E.coli</i> et <i>P.aeruginosa</i> .	58
N°11	Résultats du test d'antibiogramme pour <i>Staphylococcus aureus</i> .	59
N°12	Les germes identifiants	60

Liste des abréviations

- AFNOR** : Association française de normalisation
- ATB** : Antibiotique
- BGN** : Bacille a gram négatif
- BMR** : Bactéries multi-résistantes.
- CHP** : Chapman
- CHU** : Centre Hospitalière Universitaire.
- CLIN** : Comité de lutte contre les infections nosocomiales
- CMV** : Cytomégalovirus
- DM** : Dispositifs médicaux
- ECDC** : Européen centre for disease prévention and control
- Glu** : Glucose
- GN** : Gélose nutritive
- Gram (-)** : Gram négatif
- Gram (+)**: Gram positif
- IN**: Infection Nosocomiale
- ISO** : Infection de site opératoire
- MAC**: Mac Cononkey
- Min**: Minute
- LDC** : Lysine Décarboxylase.
- OMS** : Organisation mondiale de la santé
- ONPG**: Ortho-nitro phényle B-D galactosidase
- ORL**: Oto-Rhino-Laryngée
- PED** : Pays en voie de développement
- PH** : Potentiel hydrogène
- PLP** : Protéine liants de pénicillines
- TDA** : tryptophane désaminase
- TSI** : Tri-Suger-Iron.
- VIH** : Virus de l'ImmunoDéficiency Humaine
- SARM** : Staphylococcus aureus résistant à métricilline

Partie
Bibliographique

Produced with ScantOPDF

INTRODUCTION

Produced with ScanTOPDF

Introduction

Les infections nosocomiales sont un problème de santé mondial, tous les pays riches ou pauvres, sont concernés. Chaque jour, les infections nosocomiales causent des pertes humaines, la prolongation de l'hospitalisation des patients et l'augmentation du cout de traitement et de la prise en charge des patients. Ce phénomène est aggravé par l'émergence de bactéries multi-résistantes aux antibiotiques dans les milieux de soins.

De nombreuses enquêtes de prévalence menées dans les hôpitaux de plusieurs pays du monde ont montré que le nombre d'infections nosocomiales est très élevé et alarmant.

La survenue d'une infection nécessite l'association de plusieurs facteurs liés au micro-organisme, à la voie de transmission (patient et personnel soignant) et à l'hôte susceptible (patient). De nombreuses études ont démontré l'importance de l'environnement hospitalier, particulièrement les surfaces, comme facteur de transmission des infections nosocomiales. Les surfaces peuvent être contaminées par les microorganismes issus du patient lui-même ou par le personnel soignant ou par les visiteurs.

La surveillance microbiologique de l'environnement hospitalier représente un des axes majeurs des stratégies de lutte contre les infections nosocomiales (GRIBI K, 2016).

L'objectif principal de notre travail est l'isolement et l'identification des bactéries responsable à l'infection nosocomiale à partir du service d'urgence de l'hôpital de Guelma.

CHAPITRE I :
Les infections
nosocomiales

Les infections nosocomiales

1-Historique

Les infections dites nosocomiales (du grec : noso : maladie et Komein : prendre soin de) ont existé depuis que l'on regroupe géographiquement les malades pour tenter de leur porter assistance. Jusqu'au 19^{ème} siècle, ces infections étaient essentiellement les mêmes que celles observées alors dans la communauté (cholera, variole, peste, typhoïde, tuberculose, fièvre puerpérale...) tout au plus la promiscuité de beaucoup d'établissements rendait-elle encore plus probable l'acquisition d'une telle affection.

Dès le milieu du 19^{ème} siècle, des progrès majeurs vont être réalisés qui permettront de limiter le développement d'infections hospitalières. Ignaz P. Semmelweis en 1846 observe que les fièvres puerpérales sont quatre fois moins fréquentes si les accouchements sont effectués par des sages-femmes que des carabines qui pratiquent également des autopsies, en leur imposant une désinfection des mains avant l'accouchement la mortalité par fièvre puerpérale est passée de 11,4 à 1% (SCOTT K et al, 1999).

Les travaux de Louis Pasteur et de Robert Koch vont ouvrir l'ère de la microbiologie moderne et permettre de comprendre la nature et les modes de transmission des maladies infectieuses ceci aura pour conséquence le développement des techniques d'isolement visant à interférer avec les divers modes de transmission des agents infectieux.

En 1942, Fleming découvrait la pénicilline. Depuis cette date, les antibiotiques ont amené un vent d'optimisme et d'euphorie qui laissa croire que la pathologie infectieuse, hospitalière ou non, pourra aisément être maîtrisée (JEAN P, 2002).

Dès la fin des années cinquante, on a vu l'apparition des épidémies dévastatrices d'infections hospitalières à staphylocoques dorés résistants à la pénicilline (JEANP, 2002).

Ceci va susciter un regain d'intérêt pour les infections hospitalières. En effet, si le renforcement des mesures d'hygiène et la découverte de la pénicilline résistante aux pénicillinases vont permettre de mieux contrôler les infections à staphylocoques dorés, d'autres agents, avant tous les bacilles gram négatif (BGN) mais aussi toutes sortes de bactéries ou de champignons jugés jusqu'alors non pathogènes vont prendre le relais et être à l'origine des infections hospitalières observées aujourd'hui. Ces infections sont difficiles

à contrôler car ces agents appartiennent le plus souvent à la flore normale du patient et leur résistance ne fait que s'élargir parallèlement au développement des nouveaux antibiotiques (ATB).

Cette évolution dans l'épidémiologie des infections hospitalières est due en fait aux progrès réalisés au cours de ces dernières années permettant maintenant de traiter des patients dont les moyens de défense sont souvent altérés par leur(s) affection(s) de base, on a recours à des traitements très agressifs (cytostatiques immunosuppresseurs, radiothérapie..) et à des actes médicaux invasifs (chirurgie, sonde, cathéter, drain, tube endo-trachéal..) qui compromettent plus le système de défense déjà fragile (PAUL G, et al, 1998).

2-Définition des infections nosocomiales

On appelle infection nosocomiale (du grec *nosos*, maladie, et *komein*, soigner, et par extension, du latin *nosocomium*, hôpital), les maladies infectieuses contractées pendant une hospitalisation (MEYER et al, 2004).

Elle peut concerner soit un patient qui a été hospitalisé ou qui a subi des soins en ambulatoire dans la structure de soins, soit un personnel soignant dans le cadre de son activité professionnelle.

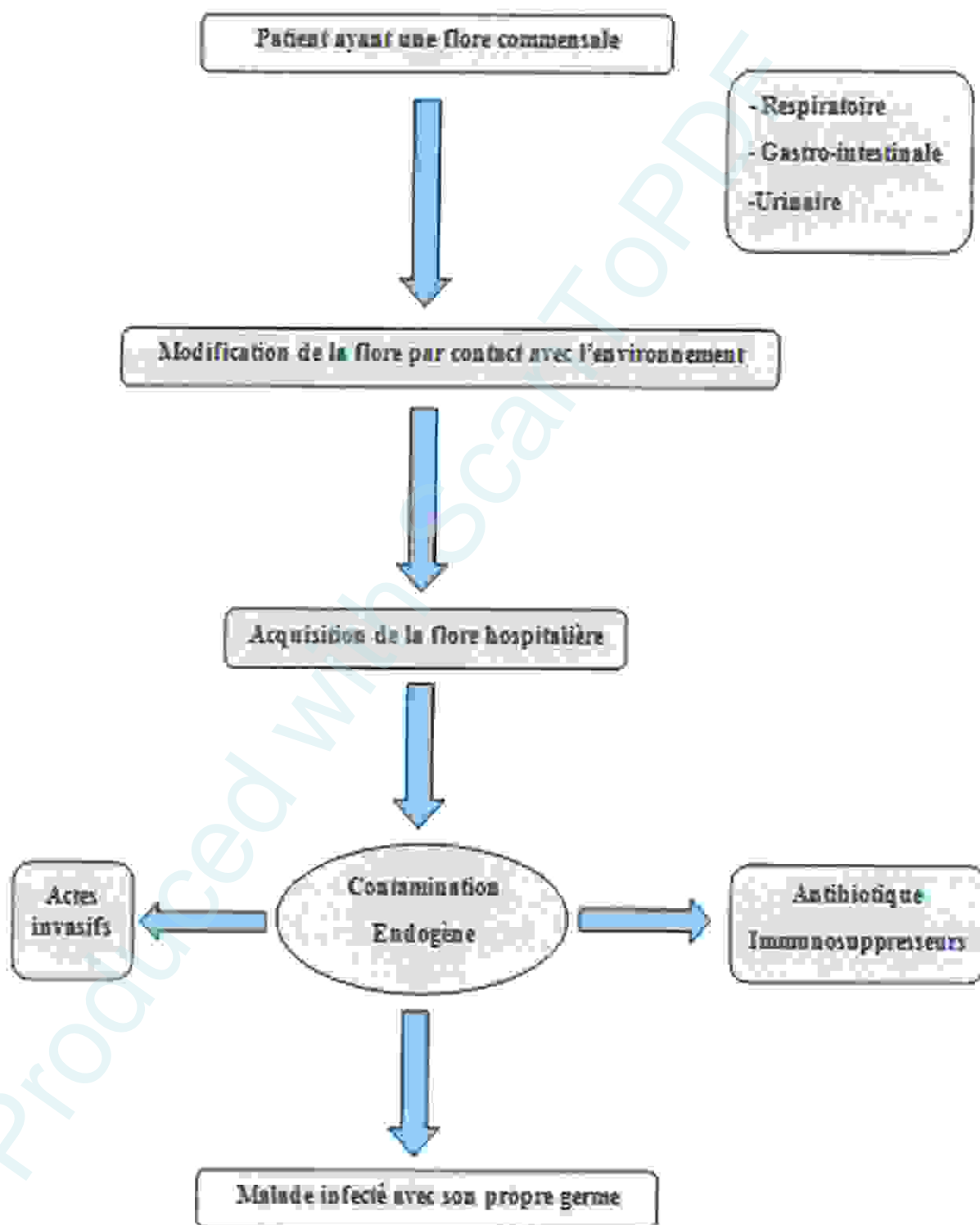
Le délai d'acquisition est variable selon le type d'infection mais il est habituellement admis qu'un minimum de 48 heures entre l'admission et les premiers symptômes est nécessaire pour parler d'infection nosocomiale (CAHN C et VEZIN C, 2002).

En contexte chirurgical une infection du site opératoire (ISO) survenant dans les 30 jours suivant le geste chirurgicale est considérée comme nosocomiale. Ce délai est porté à 1 an si du matériel étranger a été mis en place (LEHOT J et ARVIRX C, 2010).

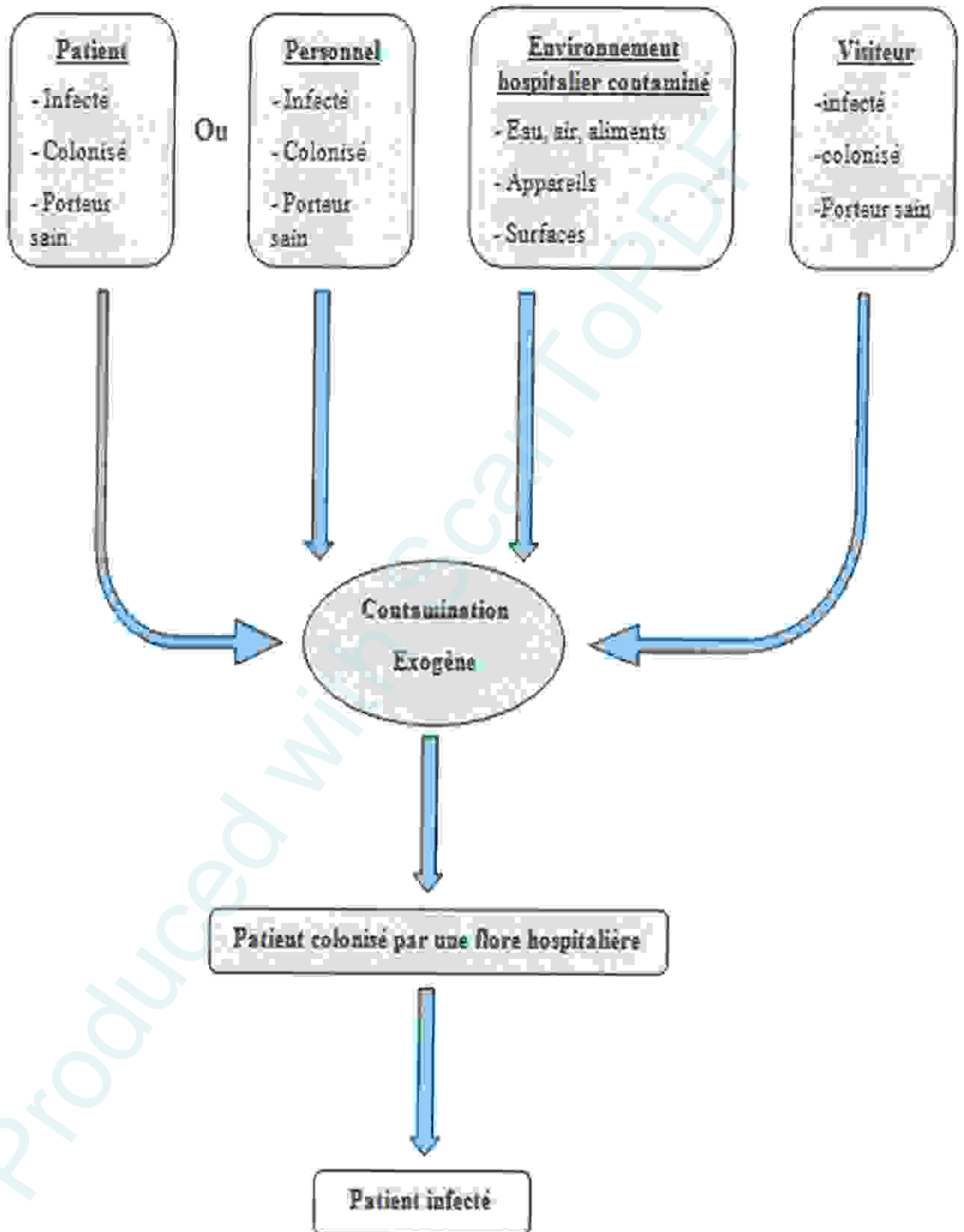
Les agents pathogènes responsables d'IN peuvent avoir deux origines :

- **Une origine endogène** : c'est-à-dire qu'ils font partie de la flore commensale du patient. Les pathogènes sont présents chez le patient avant l'hospitalisation, par exemple au niveau des voies respiratoires, de la peau, de la sphère gastro-intestinale ou génitale.
- **Une origine exogène** : c'est-à-dire que le patient a été en contact avec ces organismes au cours de l'hospitalisation. Ces pathogènes peuvent provenir de la flore transitoire ou

résidente du personnel soignant ou de visiteurs, de dispositifs médicaux (DM) et même de l'environnement et des locaux hospitaliers (HORAN TC, 2008).



SCHEMA N° 01 : Transmission endogène (POPI, 1999).



SCHEMA N°02 : Transmission exogène (POPI, 1999).

3-Prévalence et Incidence

Les infections nosocomiales sont connues dans le monde entier et touchent aussi bien les pays développés que les pays pauvres en ressources. Les infections contractées en milieu médical figurent parmi les causes majeures de décès et de morbidité accrue parmi les patients. Elles représentent une charge importante pour le patient comme pour la santé publique. A tout moment, plus de 1,4 million de personnes dans le monde souffrent de complications infectieuses acquises à l'hôpital. Les fréquences maximales ont été rapportées dans les hôpitaux des régions de la Méditerranée orientale et de l'Asie du Sud-Est (11,8 % et 10,0 % respectivement), et la prévalence atteignait 7,7 % en Europe et 9,0 % dans le Pacifique occidental (Ducel G et al, 2002).

En Algérie, les enquêtes de prévalence des infections associées aux soins organisées dans plusieurs hôpitaux d'Algérie ont mis en évidence l'importance de ce problème de santé. Le taux des patients infectés par une ou plusieurs infections nosocomiales varie selon ces enquêtes parcellaires de 15 à 20% (Ministère de la santé, 2013).

Une stratégie de surveillance des infections nosocomiales par enquêtes de prévalence répétitives a été adoptée et réalisée au CHU de Blida de 2001 à 2008. Au total, 2 200 patients ont été inclus et 107 infections nosocomiales ont été identifiées dans les 8 enquêtes. Entre 2001 et 2008, la prévalence des infections nosocomiales était respectivement de 9,5 %, 7,0 %, 4,5 %, 3,9 %, 3,0 %, 3,0 %, 5,3 % et 3,5 % (Atif et al, 2009).

4-Facteurs favorisant les infections nosocomiales

- Concentration importante des germes en milieu hospitalier ;
- Gravité des pathologies motivant l'hospitalisation (en réanimation : pathologies diverses, défaillances multi viscérales, poly traumatismes, plaies opératoires)
- Importance des procédures invasives diagnostiques ou thérapeutiques.

On considère que 45 % des infections surviennent chez les patients porteurs de dispositifs invasifs ou subissant un acte invasif.

- Augmentation du nombre de patient immunodéprimé plus sensible à l'infection.
- Age (le risque d'infection nosocomiale augmentée avec l'âge).



- Augmentation du nombre de personnel qui gravite autour des malades (transmission croisées)
- Défaut d'application des règles d'hygiène et d'asepsie (manque de formation, problème de matériel, conceptions architecturales des services (1).

5-Chaîne d'infection

Pour que l'infection se développe chez les un malade à l'hôpital, il faut que trois éléments se réunissent :

5-1-Source

Réservoir d'un micro-organisme est défini comme le lieu habituel et permanent où il persiste et multiplie, et la source est considérée comme le lieu de contact entre le micro-organisme et l'hôte qui permet la dissémination de l'infection nosocomiale.

Il existe deux types de réservoirs :

a) L'homme

Il est, soit le patient malade, soit le patient colonisé (sans signes de maladie ou porteur asymptomatique), mais le personnel et les visiteurs peuvent également être en cause. Les sites propices à jouer ce rôle de réservoir sont : la peau (mains, poignets, périnée, plaies cutanées), les muqueuses (rhinopharynx), les cheveux et les sécrétions pathologiques.

b) L'environnement

Il joue un rôle de gîte épidémiologique par le biais des surfaces (poignées – robinets - téléphones) des objets (matériel médico -chirurgical), des zones humides (siphon des lavabos et douches, vases de fleurs) et parfois, paradoxalement, des désinfectants (LIONEL H, 2003).

5-2-L'hôte

Tout malade hospitalisé est peu ou pas immunodéfisence, donc particulièrement susceptible d'être récepteur à l'infection, le patient doit avoir de façon transitoire ou permanente une défaillance de son système de protection contre l'infection (MERGOUD L, 2004).

5-3- Transmission

Elle se fait soit de manière directe d'un individu à un autre individu, les mains étant le plus souvent les premiers responsables (c'est le manu portage), Soit de manière indirecte c'est à dire par un intermédiaire : un objet, un matériel souillé. Le manu portage est un facteur déterminant dans la transmission de l'IN (SYLVIE G et al, 2003).

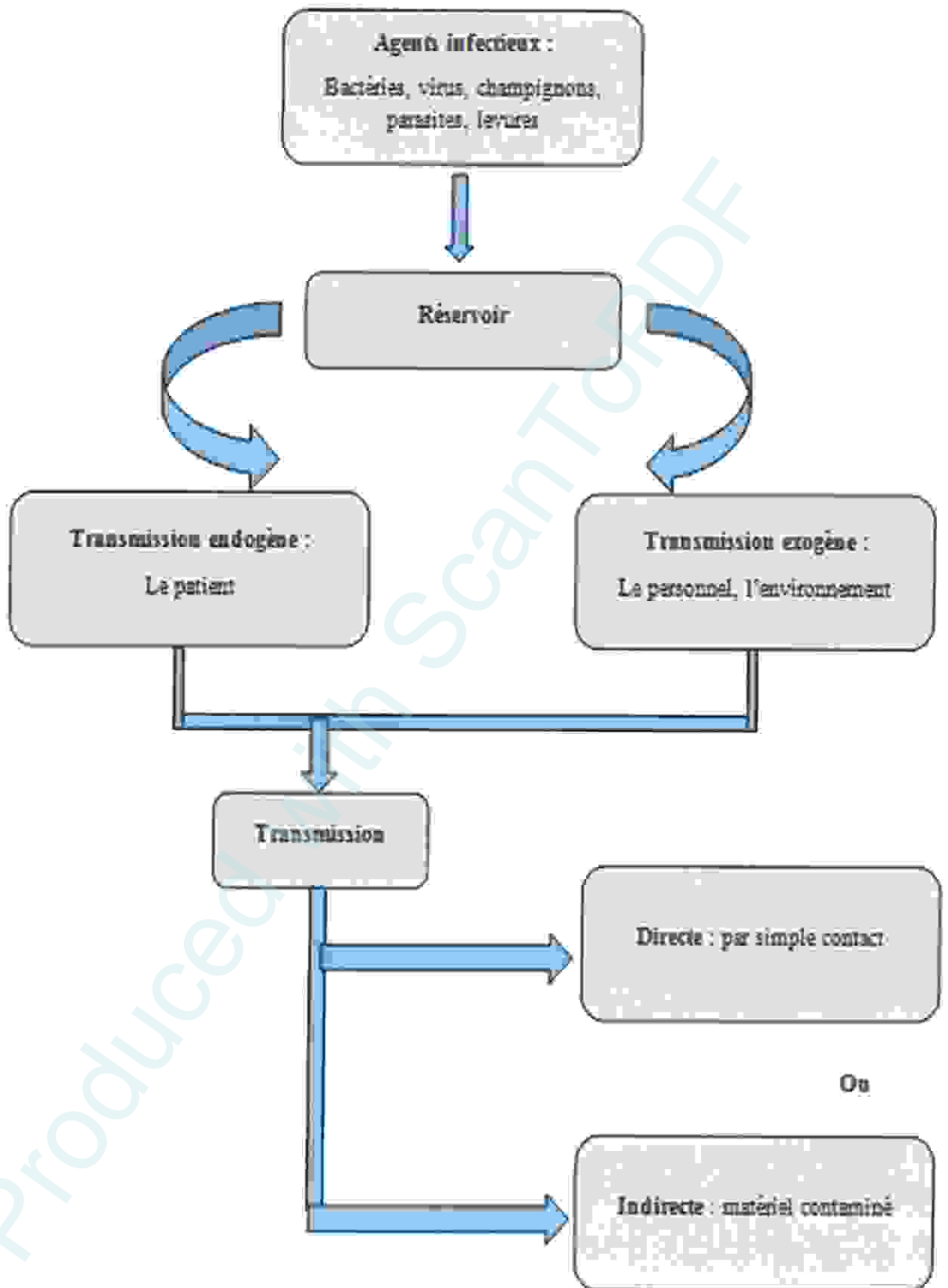


Schéma N°03 : Transmission d'infection nosocomiale (SYLVIE G et al, 2003).

5-3-1 : Mode de transmission

A/-Auto-infection

Le malade s'infecte avec ses propres germes, les " portes d'entrée " sont les lésions des muqueuses, les lésions cutanées. Les germes seront ceux de la peau, des muqueuses, du tractus digestif, etc. Ce mécanisme est favorisé par différents facteurs, la dissémination des germes du patient dans son environnement (lit ...), par l'utilisation de traitement pouvant altérer l'immunocompétence (corticoïdes, immunosuppresseurs), par l'administration de traitement sélectionnant certaines bactéries (antibiothérapie à spectre étroit ...).

B/-Hétéro – infection

Dans ce cas, le germe responsable de l'IN provient d'un autre malade, la transmission étant le plus souvent manu portée, par le personnel soignant intervenant auprès de plusieurs patients, disséminant ainsi les germes d'une personne à l'autre. Ces infections sont dites croisées. C'est le mode de contamination le plus fréquemment retrouvé lors d'épidémie.

Cependant certains germes, comme celui de la tuberculose, sont transmis par voie aérienne. Il peut en outre arriver plus rarement que les germes soient transmis par contact direct entre deux patients.

C/-Xéno – infection

Ce mode de transmission est un peu à part, dans ce cas les agents pathogènes sont transmis par des personnes venants de l'extérieur, et présentant eux- même une pathologie infectieuse déclarée ou en incubation.

D/-Exo infection

Ce mode de transmission est dû soit à un dysfonctionnement technique d'un matériel, destiné à la protection des patients qui ne remplissent plus son office , les laisser en contact des germes qui ne devraient , en principe pas faire l'objet d'une infection , en vue des mesures prises pour les prévenir (aspergillose, Légionelle ...);soit à une erreur commise dans des procédures de traitement du matériel médico –chirurgical (HYGIS N, 1998).

6-Les types d'infection nosocomiale

6-1-Infections urinaires

Ce sont les infections nosocomiales les plus courantes ; 80 % des infections sont liées à un sondage vésical à demeure. Les infections urinaires sont associées à une plus faible morbidité que les autres infections nosocomiales, mais peuvent dans certains cas provoquer une bactériémie potentiellement mortelle. Les bactéries responsables proviennent de la flore Intestinale du patient, normale (*Escherichia coli*) ou acquise à l'hôpital (*Klebsiella* multi résistantes) (OMS, 2002).

6-2-Infections du site opératoire

Les infections du site opératoire sont également fréquentes : leur incidence va de 0,5 % à 15 % selon le type d'intervention et l'état général du patient. Il s'agit d'un problème important qui limite le bénéfice potentiel des interventions chirurgicales. L'impact sur les coûts hospitaliers et la durée du séjour postopératoire (3 à 20 jours de plus) est considérable.

La définition de ces infections est essentiellement clinique : écoulement purulent autour de la plaie ou du site d'insertion du drain, ou cellulite extensive à partir de la plaie. Les infections de la plaie opératoire) et les infections profondes des organes ou des espaces sont identifiées séparément. L'infection est en général acquise pendant l'intervention elle-même, avec une origine soit exogène (air, matériel médical, chirurgiens et autres soignants), soit endogène (flore cutanée ou flore présente sur le site opératoire ou, dans de rares cas, sang utilisé en peropératoire). Les micro-organismes infectieux sont divers, et dépendent du type et de la localisation de l'intervention et des anti-infectieux reçus par le patient. Le principal facteur de risque est l'étendue de la contamination peropératoire (chirurgie propre, propre-contaminée, contaminée, sale), elle-même conditionnée par la durée de l'intervention et l'état général du patient. Les autres facteurs en jeu sont la qualité de la technique chirurgicale, la présence de corps étrangers (drains compris), la virulence des micro-organismes, la présence d'une infection concomitante sur un autre site, la pratique du rasage préopératoire et l'expérience de l'équipe chirurgicale (OMS, 2002).

6-3-Pneumopathies nosocomiales

Les pneumopathies nosocomiales s'observent chez plusieurs catégories de patients, principalement les patients sous ventilation artificielle dans les unités de soins intensifs, où leur taux atteint 3 % par jour. La pneumopathie associée à la ventilation assistée possède un taux de létalité élevé, bien que le risque attribuable soit difficile à déterminer du fait de l'importance des co-morbidités. Les microorganismes colonisent l'estomac, les voies respiratoires supérieures et les bronches, et provoquent une infection pulmonaire (pneumopathie) ; ils sont souvent endogènes (appareil digestif ou rhinopharynx) mais peuvent être exogènes, souvent à partir d'un appareil respiratoire contaminé.

La définition de la pneumopathie peut reposer sur des critères cliniques et radiologiques faciles à établir mais non spécifiques : opacités radiologiques récentes et progressives au niveau du parenchyme pulmonaire, expectorations purulentes et fièvre d'apparition récente. Le diagnostic est plus spécifique lorsqu'on peut obtenir des échantillons microbiologiques quantitatifs par bronchoscopie spécialisée et protégée. Parmi les facteurs de risque connus figurent le type et la durée de la ventilation, la qualité des soins respiratoires, la gravité de l'état du patient (insuffisances organiques) et les antécédents d'antibiothérapie (OMS, 2002).

6-4-Les infections sur cathéter

Elles représentent la quatrième cause d'infections nosocomiales (15%). Elles sont responsables d'une mortalité d'environ 6%(pouvant atteindre près de 20% dans les services de réanimation).

Ces infections vont de la simple infection locale du cathéter à la bactériémie dont le cathéter est le point de départ (Perbert, 2003).

Le principale micro-organisme responsable des infections liées aux cathéters est *Staphylococcus epidermidis* suivi des bacilles à Gram négatif, du *Staphylococcus aureus*, des entérocoques, et enfin *Candida* et autre infection fongiques (Charbonneau et Wolff, 2013).

6-5-Bactériémies nosocomiales

Les bactériémies ne représentent qu'une faible proportion des infections nosocomiales (environ 5 %) mais possèdent un taux de létalité élevé – plus de 50 % pour certains micro-organismes. Leur incidence est en augmentation, en particulier pour certains micro-organismes comme *Staphylococcus* et *Candida spp.* coagulase-négatifs multi résistants. L'infection peut se développer au point d'insertion cutané d'un dispositif intravasculaire ou sur le trajet sous-cutané d'un cathéter (infection du tunnel). Les micro-organismes qui colonisent le cathéter à l'intérieur du vaisseau peuvent provoquer une bactériémie sans infection externe visible. L'infection prend sa source dans la flore cutanée résiduelle ou temporaire. Les principaux facteurs de risque sont la durée du cathétérisme, le niveau d'asepsie lors de l'insertion, et les soins continus une fois le cathéter en place (OMS, 2002).

6-6- Autres infections nosocomiales

Les infections décrites plus haut sont les cinq types les plus fréquents et les plus importants d'infections nosocomiales, mais il existe de nombreux autres sites potentiels d'infection, par exemple :

- Infections de la peau et des tissus mous : les plaies ouvertes (ulcères, brûlures, escarres) favorisent la colonisation bactérienne et peuvent conduire à une infection généralisée.
- La gastro-entérite est l'infection nosocomiale la plus fréquente chez l'enfant, avec un rotavirus comme principal agent pathogène. Dans les pays développés, *Clostridium difficile* est la cause principale des gastro-entérites nosocomiales chez l'adulte.
- Sinusites, autres infections de la sphère ORL, infections de l'œil et de la conjonctive.
- Endométrite et autres infections de l'appareil génital après l'accouchement (OMS, 2002).

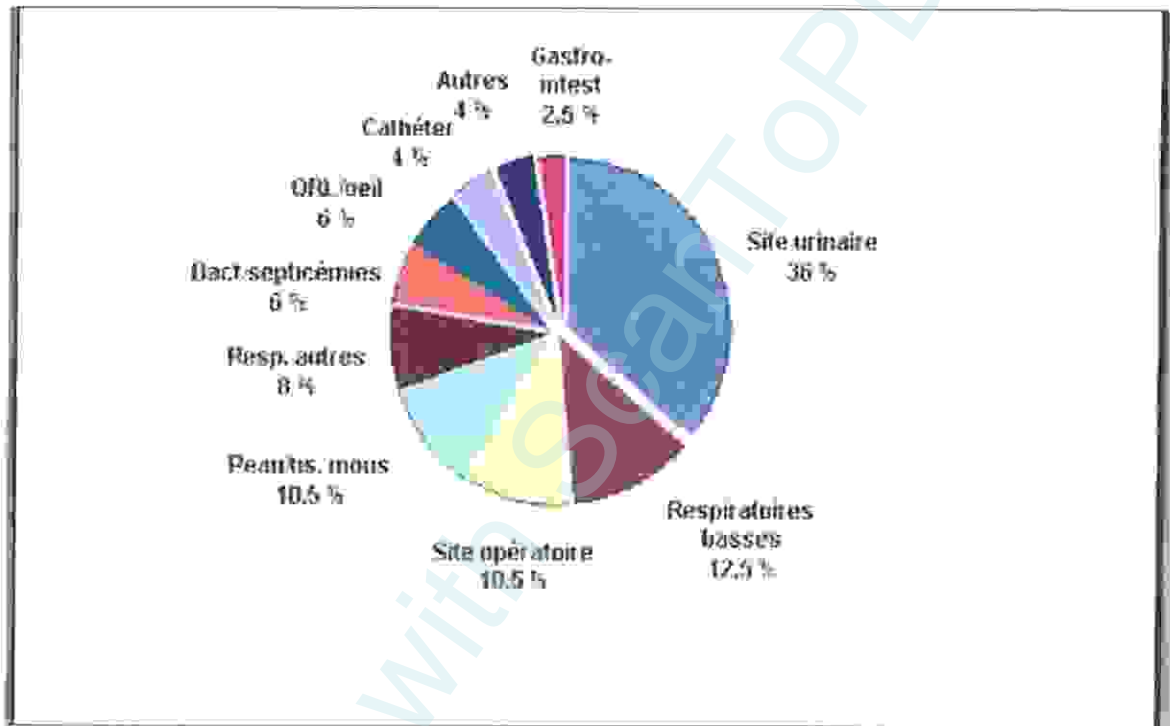


Figure N°04 : proportions des principales infections nosocomiales (2).

CHAPITRE II :
Les agents
responsables des
infections
nosocomiales

1-Les agents responsables d'infections nosocomiales

Les bactéries représentent la majorité des pathogènes responsables d'infection nosocomiale. Parmi les bactéries à Gram négatif, la famille des *Enterobacteriaceae* est la plus représentée, et les genres *Pseudomonas* et *Acinetobacter* ont également un impact conséquent. Pour les bactéries à Gram positif, revient aux genres *Staphylococcus* et *Enterococcus*, ce dernier étant tout de même moins fréquent que le premier. Des pathogènes fongiques sont également retrouvés, appartenant majoritairement au genre *Candida*. En situation endémique, il y a peu d'IN causées par des parasites ou des virus (MONNET T, 2011).

1-1-Les virus

On admet qu'au moins 5% de toutes les infections hospitalières sont causées par des virus. Il paraît que leur importance est encore sous-estimée. L'homme est l'unique réservoir en milieu hospitalier. Ce sont avant tout les services de pédiatrie qui sont les plus affectés.

Le virus respiratoire syncytial, du fait de sa contagiosité extrême et prolongée, est responsable des épidémies nosocomiales dans les services de néonatalogie.

D'autres virus (hépatite B, CMV, VIH), du fait de leur transmission à partir du sang et des autres liquides biologiques, peuvent être responsables d'infections nosocomiales chez l'adulte comme chez l'enfant (GUERIN MN, GOUYON J, 1993).

1-2-Les parasites

Les parasites les plus rencontrés au cours des infections nosocomiales sont : Le plasmodium lors des transfusions, sarcoptes scabiei (agent de la gale) et le pneumocystis carinii qui est agent opportuniste responsable de pneumopathie nosocomiale en néonatalogie et chez la malade immunodéprimée (OUBIHI B, 2015).

1-3-Les champignons

Les champignons microscopiques émergent comme agents pathogènes majeurs, leur fréquence ne cesse d'augmenter ces dernières années. Les principaux facteurs de risque d'acquisition d'une infection fongique sont: l'immunodépression, l'antibiothérapie à large spectre, et l'alimentation parentérale. Deux genres sont fréquemment rencontrés: Aspergillose dont l'origine est exogène et les candidoses dont les sources peuvent être

digestives ou provenant de solutions contaminées : collyres, liquide d'alimentation (OLIVIER L, CLAUDINE D. 2013).

1-4-Les bactéries

Représentent 90% de l'étiologie des infections nosocomiales.

- a) **Les bactéries commensales** : présentes dans la flore normale des sujets en bonne santé. Elles jouent un rôle protecteur significatif en empêchant la colonisation par des micro-organismes pathogènes. Certaines bactéries commensales peuvent provoquer une infection si les défenses immunitaires de l'hôte sont affaiblies. Par exemple, les *staphylocoques* cutanés coagulase-négatifs provoquent des infections sur cathéter vasculaire et les *Escherichia coli* présentes dans l'intestin sont la cause la plus courante d'infections urinaires.
- b) **Les bactéries pathogènes** : ont une virulence plus élevée et provoquent des infections (sporadiques ou épidémiques) quel que soit l'état immunitaire de l'hôte (OMS, 2002).

1-4-1-Les bactéries à gram négatif

Les Gram- négative sont responsable de plus de 50%des infection nosocomiales leur réservoir est le plus souvent le tube digestif (entérobactérie) ,mais il peut être environnemental (*Pseudomonas*, *aeruginosa*,*Acinetobacter*),l'épidémiologie des entérobactérie productrice de bêta -lactamase à spectre élargi (dégradant les bêta -lactamines sauf les carbapénèmes) est préoccupante.celles -ci sont responsables de colonisation et d'infections le plus souvent urinaires (*E.coli*)ou urinaires et pulmonaires (*klebsiella spp*) avec ou sans bactériémie (OLIVIER L, CLAUDINE D. 2013).

2-Les caractères cultureux

Se développe en 24 h à 37°C, sur les milieux en donnant des colonies rondes, lisses, à bord réguliers de 2 à 3 mm de diamètre, non pigmentées.

3-Les Caractères biochimiques

Glucose (+), Lactose (+), ONPG (+), Indole (+), VP (-), Urée (-), H₂S (-).

4-Le Pouvoir pathogène

- infection extra intestinales urinaire, abdominal, Méningites néonatales.

-Infection intestinales : les entérites (diarrhée aiguë) présentant des différents syndromes clinique et dysentériques) due à des *E.coli* différents de sérotypes particuliers (4).

B) *Pseudomonas aeruginosa*

On la trouve dans l'environnement hospitalier où elle peut contaminer le matériel médical (sondes, trocarts, cathéters) ou chirurgical (instruments, matériels de prothèse), les solutions antiseptiques, les solutions injectables, des produits médicamenteux ou cosmétiques.

Leurs transmissions peuvent se faire à partir des sources environnementales, soit directement par l'intermédiaire du matériel, elles peuvent aussi être interhumaines à partir d'un sujet colonisé.

Pseudomonas aeruginosa est peu virulente pour les sujets en bonne santé mais très pathogène pour les sujets immunodéprimés ou ayant une maladie grave sous-jacente, hémopathie ou cancer (BOUAZIZ S, RAMDANE A, 2005).

1-Les Caractères bactériologique

-Bacilles à gram négatif, ce germe est aussi connu sous le nom bacilles pyocyanique.

-Mobile par flagelle polaire.

-L'existence de nombreuses plasmides gouvernant les caractères phénotypiques les plus divers (résistances aux ATB, aux antiseptiques, modification au type de croissance).

2-Les Caractères cultureux

- Colonies : isolées, grande avec une petite centrale bombée et un contour irrégulier.

- Dans le milieu Fried Eggs, elle est caractérisées par une autolyse qui donne un aspect métalliques, irisés lors de la culture en nappe de la bactérie .Ce phénomène est liés à l'action des enzymes protéolytique bactériennes

- Les métabolismes glucidiques est typiquement oxydatif sans acidification des milieux.

3-Les Caractères biochimiques

-La plus part des souches n'attaquent aucun glucide, certaines cependant acidifiant le glucose sans dégagement des gaz.

-La réaction de Voges-Proskauer et de rouge de méthyle sont négatives.

-Les nitrates sont réduits en nitrites puis azote gazeux.

4-Le Pouvoir pathogène

Infection urinaires et urogénitales dues à une simple cystoscopie ou sondage vésicales, infection pulmonaires, pneumopathie, aigüe due à une inhalation d'aérosol contaminé, infection ostéo-articulaire, infection oculaire, infection méningées (JEAN L, 2002).

C) *Acinetobacter*

Les *Acinetobacter* sont des bactéries ubiquitaires isolées d'échantillons d'origine variées : plantes, certains aliments, eau douce, eau de mer, la peau, les conjonctives et les organes génitaux de l'homme sain.

Le genre *Acinetobacter* comprend 17 espèces. L'espèce *A. Baumannii* commensal de la flore cutanée est la principale espèce responsable d'infection chez l'être humain.

Elle est très répandue dans l'environnement hospitalier et peut se développer dans les solutions antiseptiques, dans les savons liquides et coloniser les appareils médicaux, les mobiliers, les sols, les souches peuvent être véhiculés par le personnel.

La transmission est directe de patient à patient ou indirecte à partir des supports inertes, et essentiellement manu portée par le personnel (OUBIHI B, 2015).

1-Les Caractères bactériologique

-Bacilles courts à gram négatif souvent en diplocobacilles, aérobie stricts.

- Immobiles, souvent encapsulés.

2-Les Caractères biochimiques

Urée (-), Indole (-), TDA (-), LDC (-), H₂S (-), ils utilisent les glucides rarement, Oxydase (-), Nitrate (-).

3-Le Pouvoir pathogène

Les principales infections nosocomiales dues à *Acinetabacter spp* sont les infections des voies respiratoires, les bactériémies et les méningites secondaires (4).

D) *Klebsiella*

1-Les Cractères généraux

Ce sont des bacilles à Gram négatifs entourés d'une capsule mais il y a un cas exceptionnel environ 60% de *Klebsiellapneumoniae* et 18% de *Klebsiella oxytoca* sont dépourvues de capsule sont présentes dans le tube digestif (EUZEBY J.P, 2004). Les *Klebsiella* sont des germes opportunistes chez les malades fragilisés (DELARRAS C, 2007) qui peuvent impliquer dans d'IN généralement les infections urinaires, les pneumopathies et les septicémies (SOUGAKOFF W, TRYSTRAM D. 2003).

E) *Enterobacter*

1-Les Caractères généraux

Les *Enterobacter* sont des bacilles à Gram négatifs, anaérobies facultatives généralement mobiles (DELARRAS C. 2007) Les espèces du genre *Enterobacter*, en particulier *E.cloacae* et *E.aerogenes*, sont des pathogènes responsables d'infections nosocomiales diverses, y compris la bactériémie, les infections des voies respiratoires et urinaires, l'endocardite, les infections intraabdominales et ophtalmiques, l'arthrite septique et les ostéomyélites (FARASER et al, 2010).

1-4-2-Les bactéries à gram positif

A) Les *staphylocoques* (3)

Les bactéries du genre *Staphylococcus* sont des coques (cocci) à Gram positif, groupés en amas ayant la forme de grappes de raisin, immobiles, non sporulés, catalase positive et oxydase négative. Parmi les 27 espèces du genre actuellement répertoriées, les principales sont *Staphylococcus aureus*, *S.epidermidis* et *S.saprophyticus*. L'espèce *S.aureus* sera prise comme type de description.

1-Habitat

S.aureus est un commensal de la peau et des muqueuses de l'homme et des animaux (rhino-pharynx, intestin). On le trouve sur la muqueuse nasale d'un tiers environ des sujets normaux. Éliminé dans le milieu extérieur, cette bactérie peut survivre longtemps dans l'environnement.

2-Etude bactériologiques

2-1 : Au Microscope

Cocci à Gram positif, isolés ou groupés en diplocoques ou en amas ayant la forme de grappes de raisin, de 0,8 à 1 μ de diamètre. La grande majorité des souches sont capsulées, mais les souches peuvent perdre leur capsule par culture.

2-2 : Les caractères culturaux

Comme tous les germes très répandus dans la nature, *S.aureus* cultive facilement sur les milieux usuels, à des conditions de pH et de température variables. Il est même capable de pousser dans des conditions hostiles, par exemple en présence de 7 % de ClNa. Ce caractère est mis à profit dans le milieu de culture sélectif hypersalé de CHAPMAN pour isoler le *staphylocoque* d'un prélèvement polymicrobien.

2-3 : Les caractères biochimiques

S.aureus a un métabolisme aérobie prédominant et anaérobie facultatif. Il est catalase positive à la différence des bactéries du genre *Streptococcus* qui n'ont pas de métabolisme aérobie. Il est toutefois capable de fermenter le glucose (métabolisme anaérobie) à la différence des microcoques. Il est habituellement capable de fermenter le mannitol. Ce caractère est souvent, mais pas obligatoirement, associé à la pathogénicité. Il est utilisé dans le milieu de CHAPMAN. La fermentation se traduit par le virage au jaune du milieu de culture.

3-Le Pouvoir pathogène

Le *S. aureus* est l'un des principaux pathogènes associés aux infections nosocomiales. Il est l'agent le plus fréquemment impliqué dans les bactériémies, responsable de nombreuses infections de site chirurgical et d'un nombre considérable de pneumonies nosocomiales (Marie-Claude, 2012).

B) Les Streptocoques

1-Habitat

Les *streptocoques* regroupent de nombreuses espèces. Certaines sont des parasites de l'espèce humaine, d'autres des commensaux de la muqueuse buccale ou de la muqueuse génitale ou de l'intestin. D'autres encore sont des commensaux des animaux ou des saprophytes.

2-Étude bactériologique

2-1- Au Microscope

Les *streptocoques* sont des cocci de taille et de forme irrégulières, à Gram positif, groupés en chaînes plus ou moins longues et flexueuses, immobiles, acapsulés, asporulés.

2-2- Les Caractères cultureux

Les *streptocoques* sont des germes exigeants qui ne poussent donc pas sur les milieux de culture ordinaires. Ceux-ci doivent être additionnés de sérum ou de sang frais.

2-3 -Les Caractères biochimiques

Les *streptocoques* sont des bactéries à métabolisme anaérobie mais aérobie tolérants. Ils n'ont pas de catalase (enzyme respiratoire), à l'inverse des staphylocoques (3).

3- Le Pouvoir pathogène

Les *streptocoques* sont responsables de très nombreuses infections dont font partie des maladies suivantes : angine bactérienne, scarlatine, infections cutanées notamment impétigo ou érysipèle, infection des voies respiratoires comme les pneumopathies, certaines méningites, des infections généralisées. Les *streptocoques* sont généralement sensibles aux antibiotiques, dont les plus utilisées à son encontre sont les pénicillines (PILET C et al).

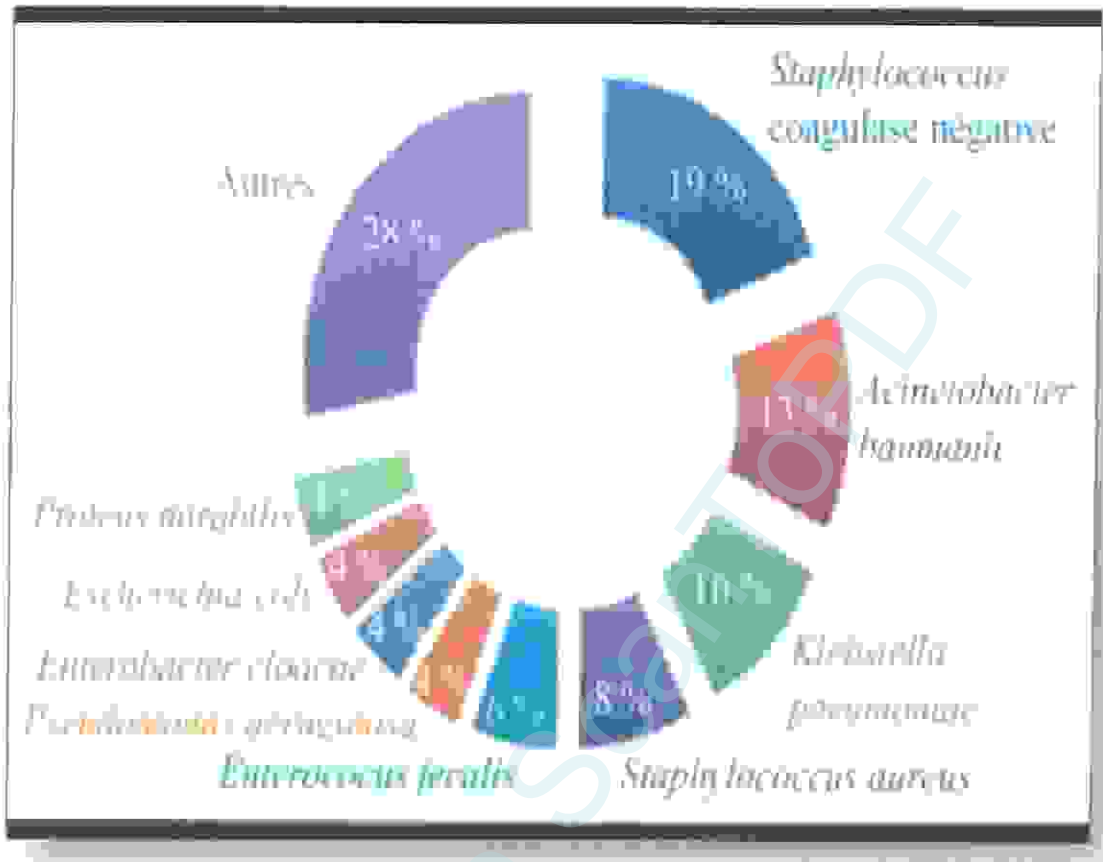


Figure N°05 : Principales bactéries impliquées dans les IN (5).

2-La résistance bactérienne

La résistance se définit par la propriété qui a une souche bactérienne de ne pas voir sa croissance inhibée sous l'effet de l'antibiotique aux concentrations obtenues in vivo après administration de ce médicament aux posologies recommandées.

La résistance bactérienne aux antibiotiques se caractérise par son caractère naturel ou acquis, son mécanisme et son support génétique.

a) Résistance naturelle

C'est une insensibilité aux antibiotiques, existant naturellement chez tous les membres d'un genre ou d'une espèce bactérienne. Elle fait donc, partie du patrimoine génétique normale du germe.

b) Résistance acquise

C'est l'acquisition des nouveaux gènes capables de rendre la bactérie insensible à un antibiotique ou à un groupe d'antibiotiques.

En milieu hospitalier où l'on utilise de nombreux antibiotiques, ces phénomènes sont bien connus.

Des bactéries devenues résistantes peuvent créer chez le personnel hospitaliers des infections dites hospitalières (nosocomiales) celles-ci sont très graves car :

- Elles touchent des individus affaiblis qui résistent mal à l'infection.
- Il est difficile de les traiter car les bactéries résistent généralement à des nombreux antibiotiques (JEAN F, 2001).

2-1-La résistance des principaux groupes

2-1-1- Résistance des *Staphylocoques*

Les Staphylocoques sont normalement sensibles à toutes les β -lactamines cependant certaines souches peuvent acquérir une résistance à la pénicilline G par production de pénicillinase extracellulaire, de déterminisme plasmique (JEAN L. et al, 2002).

De 10 à 50 % des souches de *S. aureus* isolées dans les hôpitaux français résistent à la méthicilline et à l'oxacilline ; ce pourcentage varie selon les services ces souches sont désignées comme *S. aureus* résistantes à la méthicilline (SARM).

Les souches résistantes à la méthicilline sont habituellement résistantes à de nombreux autres antibiotiques notamment aux aminosides et aux fluoroquinolones.

La vancomycine et la teicoplanine sont des antibiotiques de recours pour traiter des septicémies et les endocardites dues à des souches de *S.aureus* multi résistantes (JACQUE B, 2003).

2-1-2-Résistance des *Streptocoques*

En règle générale, les *Streptocoques* sont sensibles aux pénicillines et aux macrolides. Ils sont résistants aux polymyxines et souvent aux quinolones.

Il existe une résistance naturelle aux aminosides (résistance de bas niveau) qui sont inactifs seuls, mais qui deviennent actifs grâce à un effet synergique avec les pénicillines. Il existe des souches des *S.pneumoniae* présentent une sensibilité réduite à la pénicilline G, cela est lié à une modification des protéines liant des pénicillines (PLP) (JACQUE B, 2003).

2-1-3- Résistance d'*Acinetobacter*

Les souches d'*Acinetobacter* sont souvent multi résistantes aux antibiotiques et responsables d'infections difficiles à traiter (JEAN L et al, 2002).

On trouve cette résistance souvent sous forme d'une multi résistance aux β -lactamines et aux aminoglycosides. Elle est due à la production de β -lactamases et d'enzymes modifiant les aminoglycosides. L'activité des nouveaux antibiotiques comme les céphalosporines de 3^{ème} génération et des fluoroquinolones reste partiellement conservée mais semble néanmoins diminuée au cours de ces dernières années. Les substances les plus actives restent les carbapénems.

Parmi les souches hydrolysant l'imipénème la plus importante est *A. baumannii* tandis que les autres espèces moins impliquées dans les infections nosocomiales auraient plutôt tendance à rester sensibles aux antibiotiques ; il est donc impératif d'identifier soigneusement les souches nosocomiales et de tester leur sensibilité aux antibiotiques pour pouvoir appliquer un traitement ciblé et pour pouvoir effectuer des études épidémiologiques (JEAN L et al, 2002).

2-1-4-Résistance de *Pseudomonas aeruginosa*

Ps. aeruginosa est naturellement résistant à de nombreux antibiotiques, notamment les pénicillines du groupe A, les céphalosporines de 1er de 2ème et parfois 3ème génération les phénicoles, les tétracyclines et le cotrimoxazole.

Les souches ont développé une résistance acquise qui résulte d'une imperméabilité de la membrane externe, d'un phénomène d'efflux d'une altération des sites d'action ou de la production d'enzymes dégradant les β -lactamines et les aminosides.

Parmi les antibiotiques pouvant être actifs, on peut retenir la ticarcilline associé ou non à l'acide clavulanique, la pipéracilline associé ou non au tazobactam, la ceftazidime, le céfépime, laztréonam, l'imipénème, le méropénème, l'amikacine, la tobramycine, l'iséparmicine.

La ciprofloxacine, la fosfomycine, la colistine, la ciprofloxacine et la fosfomycine doivent être utilisées en association avec d'autres classes d'antibiotiques pour éviter la sélection de mutants résistants (CHARLES N, 2000).

2-1-5- Résistance d' *Escherichia Coli*

Des souches d'*E.coli* sont généralement sensible aux antibiotiques actifs sur les bactéries Gram (-) : aminopénicillines, céphalosporine, quinolones, aminosides, triméthoprim - sulfaméthoxazole.

Cependant la résistance aux amino et aux carboxi-pénicillines par production de pénicillinase dépasse 40% des souches.

Pour les autres antibiotiques ; les fréquences sont faibles à l'exception des sulfamides (50%), des tétracyclines (40%) et du chloramphénicol (25%) (JACQUE B, 2003).

2-1-6- Résistance des *Klebsiella*

Les *Klebsiella* posent souvent des problèmes d'antibiothérapie ; elles ont une résistance naturelle à l'ampicilline et à la carbapénicillines dues à la production d'une pénicillinase chromosomique à laquelle les céphalosporines sont insensibles.

La résistance acquise à de nombreux antibiotiques, particulièrement aux aminosides, est très fréquente. La multi résistance habituelle des souches rendent indispensable le rôle du laboratoire dans le choix du traitement (JEAN L et al, 2002).

2-1-7- Résistance d' *Enterobacter*

Les *Enterobacter* sont souvent très résistants aux antibiotiques *E.cloacae* à une résistance naturelle à l'ampicilline et à la céfalotine (JACQUE B, 2003).

Il est important au cours d'une infection par *E.cloacae* de surveiller attentivement l'efficacité d'un traitement par les nouvelles β -lactamines.

En effet, cette espèce peut devenir résistante au cours du traitement soit par diminution de la perméabilité de la paroi bactérienne, soit par hyper production d'une céphalosporinase (JEAN L et al, 2002).

Produced with ScanTOPDF

CHAPITRE III :
La prévention des
infections
nosocomiales

I-Surveillance et prévention des infections nosocomiales

1-Surveillance des infections nosocomiales

Le taux d'infections nosocomiales parmi les patients d'un établissement de santé est un indicateur de la qualité et de la sécurité des soins. L'élaboration d'un processus de surveillance de ce taux constitue le préalable indispensable à l'identification des problèmes et priorités locaux et à l'évaluation de l'efficacité des activités de lutte contre l'infection.

La surveillance est en elle-même un processus efficace pour faire baisser la fréquence des infections nosocomiales (OMS, 2002).

1-1- Objectifs

Le but ultime est la réduction des infections nosocomiales et de leur coût.

Les objectifs spécifiques d'un programme de surveillance sont :

- améliorer la prise de conscience, chez le personnel soignant et les autres catégories de personnel (y compris le personnel de l'administration) du problème des infections nosocomiales et de la résistance aux anti-infectieux, de façon qu'ils perçoivent la nécessité des mesures préventives.
- surveiller les tendances : incidence et répartition des infections nosocomiales, prévalence et, si possible, incidence ajustée sur le risque aux fins de comparaison intra- et inter-hôpitaux.
- identifier la nécessité de nouveaux programmes de prévention ou de programmes renforcés et évaluer l'impact des mesures préventives.
- identifier les domaines possibles d'amélioration des soins et d'élargissement des études épidémiologiques (analyse des facteurs de risque) (OMS, 2002).

1-2- Stratégie

Un système de surveillance doit satisfaire aux critères suivants :

- Simplicité, pour réduire les coûts et la charge de travail, et promouvoir la participation des services concernés grâce à un retour rapide d'information.
- Flexibilité, pour pouvoir être modifié si nécessaire.
- Acceptabilité (évaluée par exemple par le taux de participation, la qualité des données).

- Régularité (utiliser des définitions et une méthodologie standardisées).
- Sensibilité, même si une méthode de dépistage des cas avec une faible sensibilité peut être valable pour observer les tendances tant que la sensibilité ne varie pas au cours du temps et que les cas identifiés sont représentatifs.
- Spécificité, ce qui nécessite des définitions précises et des enquêteurs entraînés (OMS, 2002).

2- La prévention des infections nosocomiales

La prévention des infections nosocomiales passe par l'ensemble des personnes et des services impliqués dans les soins de santé. Chacun doit contribuer à réduire le risque d'infection à la fois pour les patients et pour le personnel. Le concept de prévention englobe le personnel soignant, la direction, l'implantation de l'établissement, la fourniture du matériel et des produits, et la formation des agents de santé. Pour être efficaces, les programmes de lutte contre les infections nosocomiales doivent être très complets et porter aussi bien sur les activités de surveillance et de prévention que sur la formation du personnel (OMS, 2002).

La prévention des infections nosocomiales nécessite un programme intégré, contrôlé, dont les éléments clés sont les suivants :

- limiter la transmission d'agents microbiens de patient à patient pendant les activités de soins directs par le lavage adéquat des mains et le port de gants, et en observant des pratiques et stratégies d'asepsie, d'isolement, de stérilisation, de désinfection et de blanchisserie appropriées.
 - maîtriser les risques infectieux liés à l'environnement.
 - protéger les patients par l'usage approprié d'anti-infectieux à titre prophylactique, par l'alimentation et par les vaccinations.
 - limiter le risque d'infection endogène par la réduction des gestes invasifs et par la promotion d'un usage optimal des anti-infectieux.
- surveiller les infections, identifier et maîtriser les flambées.
- assurer la prévention des infections chez les membres du personnel.
- renforcer les pratiques de soins et assurer la formation continue du personnel.

2-1- Réduction de la transmission de personne à personne

2-1-1- Décontamination des mains

La principale mode de transmission des infections en unité de soins est le manu portage, car la main qui soigne, reconforte, peut aussi transmettre l'infection.

Le lavage des mains est la mesure la plus efficace pour réduire le taux des IN.

Le but du lavage des mains est de réduire la flore microbienne des mains, afin d'interrompre la chaîne de transmission manu portée des microorganismes pathogènes ou potentiellement pathogènes, d'un malade infecté ou colonisé à un autre patient (LIONEL H. juin 2003).

2-1-2- Hygiène personnelle

Tous les membres du personnel doivent observer une bonne hygiène personnelle. Les ongles seront propres et coupés court. Le port de faux ongles ne sera pas autorisé. Les cheveux devront être courts ou attachés. La barbe et la moustache seront propres et taillées court.

2-1-3- Tenue

Le personnel peut normalement porter un uniforme ou des vêtements ordinaires et une blouse blanche. Dans certains secteurs tels qu'unités de soins intensifs ou de soins aux brûlés, un uniforme avec pantalon et blouse à manches courtes est requis pour le personnel des deux sexes. Dans les autres unités, les femmes peuvent porter une robe à manches courtes.

La tenue de travail doit être en tissu facile à laver et à décontaminer. Si possible, on mettra une tenue propre chaque jour. La tenue de travail devra être changée après exposition au sang ou si elle est mouillée par suite d'une transpiration excessive ou d'une exposition à des liquides.

2-1-4- Masques

Les masques en coton, en gaze ou en papier sont inefficaces. Les masques en papier avec un matériau synthétique filtrant constituent une barrière efficace contre les microorganismes.

2-1-4- Gants

Des gants sont utilisés dans les situations suivantes :

- Protection des patients : le personnel doit porter des gants stériles pour la chirurgie, les soins aux patients immunodéprimés, les gestes invasifs sur des cavités.
- Des gants non stériles doivent être portés pour tous les contacts avec les patients lorsque les mains risquent d'être contaminées, ou pour tout contact avec les muqueuses.
- Protection du personnel : le personnel doit porter des gants non stériles pour les soins aux patients porteurs de maladies transmissibles par contact, et pour pratiquer des bronchoscopies ou examens similaires.
- Il faut se laver les mains lorsqu'on enlève ou qu'on change les gants.
- Les gants à usage unique ne doivent pas être réutilisés.

2-2- Prévention de la transmission par l'environnement

Pour réduire au minimum la transmission de micro-organismes à partir du matériel ou de l'environnement, des méthodes de nettoyage, de désinfection et de stérilisation adéquates doivent être mises en place. Chaque établissement élaborera des politiques et procédures écrites, qui seront régulièrement mises à jour.

2-2-1- Nettoyage de l'environnement hospitalier

- Un nettoyage de routine est nécessaire pour assurer un environnement hospitalier d'une propreté visible, et exempt de poussière et de saleté.
- Quatre-vingt-dix pour cent des micro-organismes se trouvent dans la poussière visible, et le but du nettoyage de routine est d'éliminer cette poussière. Ni le savon ni les détergents ne possèdent d'activité antimicrobienne, et le processus de nettoyage repose essentiellement sur l'action mécanique.
- Chaque établissement devra établir des politiques spécifiant la fréquence du nettoyage et les produits utilisés pour les murs, sols, fenêtres, lits, rideaux, écrans et rideaux de séparation, installations fixes, meubles, salles de bain et toilettes, ainsi que tous les dispositifs médicaux réutilisables (OMS, 2002).

2-2-2- La désinfection

C'est une opération au résultat momentané, permettant d'éliminer ou de tuer les micro-organismes et (ou) d'inactiver les virus indésirables portés par les milieux inertes contaminés en fonction des objectifs fixés. En utilisant des produits appelés désinfectants qui sont définis par l'AFNOR définit le désinfectant comme « un produit capable d'éliminer, ou de tuer, par action directe les micro-organismes indésirables ou d'inactiver les virus lorsqu'ils sont portés par des milieux ou des surfaces inertes parmi les désinfectants :

- 1/- Les oxydants.
- 2/- Les chlores.
- 3/- Les aldéhydes.
- 4/- Les alcools.
- 5/- Les acides et les bases fortes.
- 6/- Les phénols.
- 7/- Les biguanides.
- 8/- Les tensioactifs.
- 9/- Les huiles essentielles ou encenses balsamique (JEAN F et al, 2001).

2-2-3 : La stérilisation

La stérilisation est l'opération appliquée à un produit ou à un objet pour le rendre stérile, c'est à dire débarrasser de tous les micro-organismes vivants qu'elle que soit leur nature qui pourraient être présents.

L'ensemble des procédés mis en œuvre a pour but la destruction de tous les microorganismes. Le résultat obtenu, ou état de stérilité, est durable si le matériel est conservé stérile, à la différence de la désinfection et de la décontamination, mais c'est l'état éphémère lié aux conditions de conservation. La production d'un objet stérile est le résultat d'une démarche globale qui concerne les étapes avant, pendant et après la stérilisation.

Elle doit s'inscrire dans un système qualité lié à une obligation de résultat. La stérilisation prend place dans la lutte pour la prévention des IN (LIONEL H, juin 2003).

Il existe plusieurs modes de stérilisation :

- La vapeur d'eau (autoclave)
- Le gaz (oxyde d'éthylène)
- La chaleur sèche (SYLVIE G et al, 2002).

2-2-4- Asepsie

Est l'ensemble des mesures propres à empêcher tout apport exogène des microorganismes (JEAN F et al, 2001).

C'est une méthode préventive qui réalise l'absence de germe en surface et en profondeur par la stérilisation (SYLVIE G et al, 2002).

2-2-5- Antisepsie

Opération qui consiste à détruire par divers produits physiques ou chimiques les germes déjà présents. Cette opération n'aboutit pas dans tous les cas à la stérilité, il s'agit donc d'une simple décontamination au cours de laquelle disparaissent la majorité non la totalité des contaminants (BOULAHBAL F, 1993).

Opération au résultat momentané, permettant au niveau des tissus vivants, dans la limite de leur tolérance, d'éliminer ou tuer les microorganismes et (ou) d'inactiver les virus en fonction des objectifs définis. Le résultat de cette opération est limité aux microorganismes présents au moment de l'opération (JEAN F et al, 2001).

2-3- Mesures spécifiques de prévention (SAMOU E, 2005)

2-3-1-Prévention des infections urinaires nosocomiales

La mise en place d'une sonde à demeure doit être évitée ou faite avec beaucoup de précautions d'asepsie : le port de gant stérile, la toilette périnéale avec des antiseptiques bactéricides etc....

Le système de drainage de l'urine ne doit jamais être ouvert, il doit être stérile et éviter tout reflux. La vidange du sac doit se faire par le bas et tout prélèvement doit se faire au niveau de la bague après l'avoir désinfectée. Il faut une vérification régulière de la sonde et du méat, surveiller un décalage thermique. Le sac collecteur ne doit jamais reposer sur le sol.

Faire boire abondamment le malade, faire un changement de l'ensemble sonde- système de drainage :

- en présence d'un écoulement défectueux.
- si le sac collecteur est détérioré.
- devant une infection urinaire confirmée.

2-3-2- Prévention des pneumonies nosocomiales

1. Malade de réanimation

La prévention vise à éviter les contaminations par le matériel utilisé. Il faut faire une désinfection soignée des couveuses, nébuliseurs, appareils de ventilation assistée, aspirateurs. Il est bon également d'isoler un malade présentant une dissémination de l'infection.

2. Malade de chirurgie

En préopératoire : Il faut une kinésithérapie en cas de broncho-pneumopathie chronique obstructive. En postopératoire : La kinésithérapie pour éviter l'encombrement respiratoire est nécessaire aussi bien que le lever précoce pour favoriser une autonomie respiratoire du patient.

2-3-3- Prévention des infections des plaies opératoires

Il faut limiter le plus possible la durée du séjour hospitalier préopératoire et proposer les explorations préopératoires en ambulatoire. Les infections préexistantes doivent être dépistées et traitées.

La préparation cutanée suit une procédure qui comprend : une douche la veille de l'intervention, un dépilage par tondeuse ou crème épilatoire de la zone à opérer. Il faut observer une asepsie rigoureuse lors de la manipulation des drains et la réalisation des pansements ; éviter les injections de substances ou de médicament dans les systèmes de drainage et privilégier les systèmes d'aspiration clos.

Le nettoyage, la désinfection des bâtiments et lits, la stérilisation des instruments, l'incinération et l'enfouissement des déchets permettent de diminuer la survenue des infections nosocomiales.

2-3-4- Prévention des infections sur cathéter

Il faut des protocoles écrits pour l'usage des cathéters ; il faut limiter les indications des cathéters ; les poses de cathéter doivent être programmées et effectuées par des opérateurs expérimentés. Il faut une asepsie chirurgicale lors de la pose et de l'entretien du cathéter. Les cathéters doivent être désinfectés à la polyvidone iodée ou à la chlorhexidine.

Il faut préférer les abords sous-claviers plutôt que jugulaires et insister sur une fixation solide et un pansement occlusif changé après 48 à 72 heures. Il faut un changement des lignes toutes les 48 à 72 heures (un changement toutes les 24 heures en cas de nutrition parentérale) ; un changement des tubulures toutes les 48 à 72 heures (un changement toutes les 24 heures en cas de nutrition parentérale).

Partie pratique

Produced With ScantOPDF

CHAPITRE I :
Matériel et Méthodes

Chapitre I : matériels et méthodes

1-Cadre d'étude

Notre travail a pour le but d'isolement et identification des micro-organismes responsables d'une infection nosocomiale à partir de l'environnement hospitaliers et des patients hospitalisés au niveau de service des urgences de l'hôpital d'El Hakim Okbi Guelma. Le pratique a été effectué au niveau du laboratoire de la microbiologie du département de biologie de l'université de Guelma.

- **milieux et matériels utilisé**

Tableau N°1 : Milieux et matériel utilisé.

Matériel de Prélèvement	Matériel d'enrichissement	Matériel d'isolement	Matériel d'identification
<ul style="list-style-type: none"> - Écouvillons stériles - Eau distillée stérile - Glacière - Etiquettes 	<ul style="list-style-type: none"> - Tubes à essai - Bouillon nutritif - Etuve 	<ul style="list-style-type: none"> - Aune de platine - Boîtes de pétri - Bec bunsen - Gélose nutritive - Gélose Chapman - Gélose Mac-Conkey 	<ul style="list-style-type: none"> - Galerie biochimiques classique - Api Staph - King A, King B

2-Méthodologie du travail

2-1- Prélèvement

Les prélèvements ont été réalisés à l'aide des écouvillons stériles préalablement humidifiés avec l'eau distillée stérile, que l'on frottait les sites choisis.

Tableau N°2 : Numéro des sites de prélèvement.

Numéro de prélèvement	Site de prélèvement
(1)	- Drap
(2)	- Mur
(3)	- Poignées des portes
(4)	- Lit du malade
(5)	- Mains du malade

2-2-Enrichissement

Introduire les écouvillons précédents dans des tubes de bouillon nutritif et les incuber à 37 C° pendant 24 à 48 heures jusqu'à l'apparition d'un trouble dans les milieux.

2-3- Isolement et purification des souches bactériennes

L'isolement est effectué en ensemençant à partir de bouillon nutritif trois milieux : gélose nutritive, gélose Chapman, gélose Mac-Conkey par la méthode des stries en utilisant l'anse de platine. Les boîtes sont ensuite incubées à 37 C° pendant 24 à 48 heures. La purification des souches obtenues est effectuée par un repiquage successif sur les mêmes milieux de culture.

Les milieux gélosés sont les suivants

-Gélose nutritive : ce milieu est utilisé pour la culture d'une grande variété des micro-organismes, l'utilisation de ce milieu doit conduire à l'obtention de colonies bien isolées (GUEZLAN et al. 2008).

-Gélose Chapman : Le milieu de Chapman est un milieu sélectif, surtout utilisé en microbiologie médicale, permettant la croissance des germes halophiles. Parmi ces germes figurent au premier rang les bactéries du genre *Staphylococcus*, mais aussi les *Micrococcus*, les *Enterococcus*, les *Bacillus*, et de rares bactéries à Gram négatif (6).

-**Gélose Mac-Conkey** : la gélose de Mac-Conkey est utilisée pour l'isolement des entérobactéries, ainsi que la différenciation entre les bactéries qui fermentent le lactose (lac +) et celle qui ne fermentent pas (lac -). Ce milieu est caractérisé par :

-La fermentation du lactose en acide est révélée en présence de rouge neutre par la formation de colonies rose ou rouge.

- Les micro-organismes (lac -) présentent des colonies incolores (7).

-**Mueller-Hinton** : c'est gélose standardisée pour la réalisation de l'antibiogramme, permettant de tester l'action des antibiotiques sur les bactéries, il peut être additionné de sang (pour les *streptocoques*), coulée en boîtes de façon à obtenir une épaisseur de 4mm (8).

2-4- Identification

L'identification des souches purifiées est réalisée en suivant une procédure de plusieurs étapes successives, basée sur la recherche et la détermination d'un certain nombre de caractères morphologiques (coloration de Gram), physiologiques (catalase et oxydase, coagulase) et biochimiques (galeries classique, Api Staph).

2-4-1- Identification macroscopique

L'identification macroscopique des germes basée sur l'observation à l'œil nu, l'aspect des colonies obtenues à partir des différents milieux d'isolement. Cette observation servira de moyen d'orientation pour une identification plus approfondie.

2-4-2- Identification microscopique

2-4-2-1 : Examen après coloration

a) Coloration de Gram

Cette technique permet de diviser les germes en deux parties, les bactéries à Gram positif colorées en violet foncé et les bactéries à Gram négatif colorées en rose.

On peut aussi observer la disposition des germes et leur morphologie (GUIZZLENE et al, 2008).

b) Matériels et les réactifs utilisés

Tableau N°03 : Matériel utilisé dans la méthode de la coloration de Gram.

Matériel	les réactifs
<ul style="list-style-type: none"> - Microscope optique - Lames et lamelles - Bec bunsen - Anse de platine 	<ul style="list-style-type: none"> - Violet de Gentiane - Solution de Lugol - Bleu de Méthylène - Alcool-acétine - Eau stérile - Fuchsine - Huile de cèdre

c) La méthode

- Avant tout coloration il faut réaliser un frottis.
- Déposer sur une lame propre une goutte d'eau stérile.
- Prélever à l'aide de l'anse de platine une colonie bactérienne.
- Mélanger à fin d'obtenir une suspension homogène.
- Sécher et fixer le frottis au-dessus de la flamme du bec.
- Réaliser une coloration simple au violet de Gentiane, laisser agir pendant 1minut.
- Ajouter le Lugol et laisser agir pendant 1minut.
- Laver à l'eau puis à l'alcool.
- Séchage
- Recolorer avec la Fuchsine, laissé agir pendant 1minut.
- Observer au microscope à (x100) immersion après avoir déposé une goutte de l'Huile de cèdre au centre de la lame (9).

2-4-3 : Etude des caractères biochimiques

2-4-3-1-Identification des entérobactéries

a) Galerie biochimique classique

Nous avons effectué une galerie biochimique classique présentée dans le tableau suivant :

Tableau N°04 : Caractéristiques de la galerie biochimique classique.

Milieu	Mode d'enrichissement	Caractères recherchés	Résultat
TSI	L'ensemencement sur ce milieu est effectué sur la pente, et par piqure centrale dans le culot (10). Mettre à l'étuve à 37°C pendant 24 h.	Ce milieu permet la lecture de : glucose, saccharose, lactose, H ₂ S, gaz.	-virage de bas du milieu au jaune : Glu (+) -virage de haut du milieu au jaune : Lac (+) -noircissement du milieu : H ₂ S (+) -production de gaz en bas du milieu avec fragmentation de milieu : Gaz (+)

<p>Citrate de Simmons</p>	<p>L'ensemencement sur ce milieu est réalisé en effectuant une strie longitudinale, à partir d'une suspension bactérienne (10). Incuber a 37C° pendant 24 h.</p>	<p>Utilisation de citrate comme unique source de carbone et se traduit par une alcalinisation de milieu.</p>	<p>-milieu verdâtre sans virage de couleur : résultat (-) -virage de couleur de milieu en bleu : Résultat(+)</p>
<p>Mannitol mobilité</p>	<p>l'ensemencement se fait par piqure centrale incuber a 37C° pendant 24h (10).</p>	<p>-Mannitol -Mobilité</p>	<p>-virage de couleur du milieu au jaune : Mannitol(+) L'apparition d'un rouble autour de la piqure : mobilité (+)</p>
<p>Urée-Indole</p>	<p>L'ensemencement se fait à l'aide d'une pipette pasteur introduite dans la solution (10). incuber a 37C° pendant 24h. Test Indole : après l'incubation on ajoute à la culture le réactif de Kovacks</p>	<p>-Uréase -formation d'indole</p>	<p>-virage de couleur de milieu en rose : Uréase (+) -apparition d'un anneau rouge : Indole (+)</p>

<p>Mannitol mobilité</p>	<p>l'ensemencement se fait par piqure centrale incuber a 37C° pendant 24h (10).</p>	<p>-Mannitol -Mobilité</p>	<p>-virage de couleur du milieu au jaune : Mannitol(+) L'apparition d'un rouble autour de la piqure : mobilité (+)</p>
<p>Urée-Indole</p>	<p>L'ensemencement se fait à l'aide d'une pipette pasteur introduite dans la solution (10). incuber a 37C° pendant 24h. Test Indole : après l'incubation on ajoute à la culture le réactif de Kovacks</p>	<p>-Uréase -formation d'indole</p>	<p>-virage de couleur de milieu en rose : Uréase (+) -apparition d'un anneau rouge : Indole (+)</p>

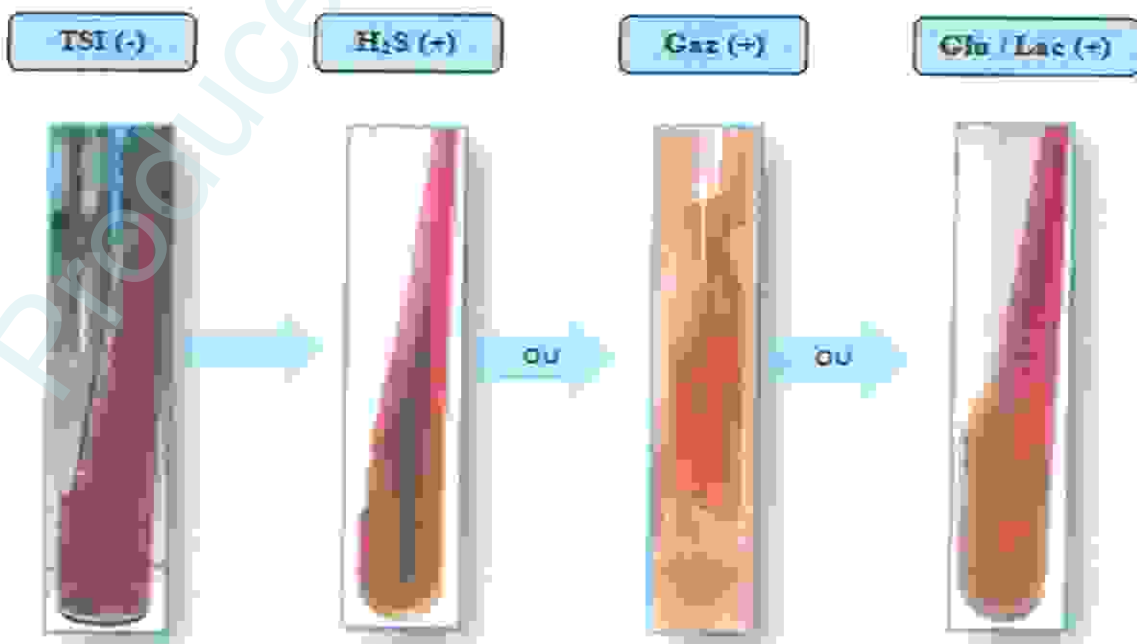


Figure N°06 : Recherche du milieu TSI avant et après l'incubation.

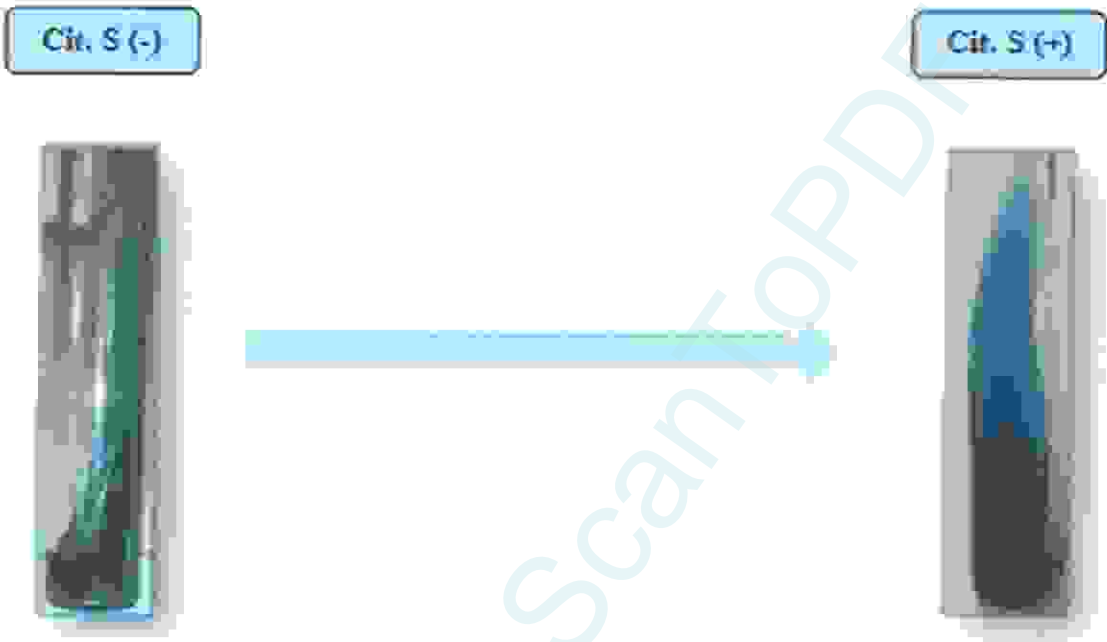
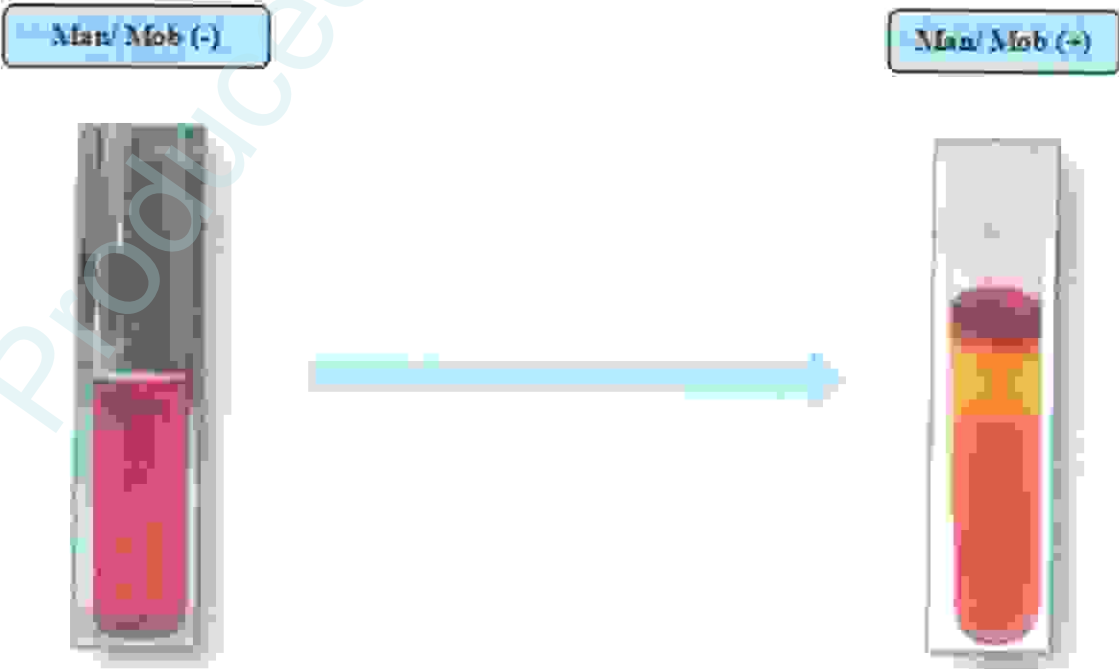


Figure N°07 : Recherche du milieu Citrates de Simmons avant et après l'incubation.



2-4-3-2-Identification des *Pseudomonas*

- productions des pigments

Des espèces des *Pseudomonas* produisent des pigments dont les deux principaux (pyocyanine et pyoverdine) peuvent être mis en évidence sur les géloses King A et King B.

Le milieu est ensemencé par strie sur la pente, incubation à 37°C pendant 24h.

- King A

La gélose King A est utilisée pour la caractérisation des *Pseudomonas* par la mise en évidence de la production de pyocyanine. La production de pyocyanine se caractérise par une pigmentation bleue.

- King B

La gélose King B permet la production de fluorescéine (ou pyoverdine), pigment jauné vert fluorescent sous lumière ultra-violette, par certains *Pseudomonas*.

-Technique

A partir d'une culture sur gélose, ensemencer les milieux King A et King B en faisant une strie sur la pente avec l'anse. L'incubation à 37°C pendant 24 h (AMARA I, 2015).



Figure N°10 : Aspect des milieux King A et King B avant et après l'utilisation

La gélose King B permet la production de fluorescéine (ou pyoverdine), pigment jaune vert fluorescent sous lumière ultra-violette, par certains *Pseudomonas*.

-Technique

A partir d'une culture sur gélose, ensemercer les milieux King A et King B en faisant une strie sur la pente avec l'anse. L'incubation à 37C° pendant 24 h (AMARA I, 2015).

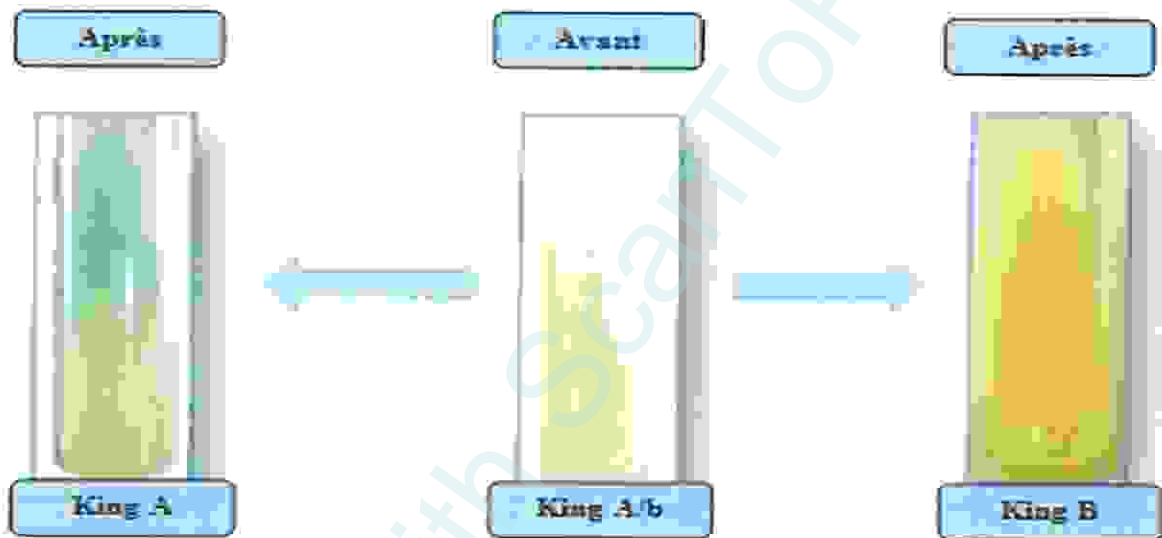


Figure N°10 : Aspect des milieux King A et King B avant et après l'utilisation.

2-4-3-3-Identification des staphylocoques

Les souches à Gram positif isolées ont été identifiées par des techniques microbiologiques standards (la coloration de Gram, catalase et test de coagulase) et par la galerie API Staph.

Les résultats obtenus au cours de chaque étape permettent l'orientation des démarches ultérieures.

A) La Galerie API Staph

> Principe

Api Staph est un système standardisé, conçu dans les années 1980 permettant d'identifier :

- Vingt espèces et sou espaces de staphylocoques, dont quinze d'origine animale.

- La galerie Api Staph est composée de 20 microtubes contenant des substrats déshydratés, qui permettent de réaliser 19 tests biochimiques appartenant au métabolisme respiratoire, glucidique et protéique des bactéries.
- La galerie est inoculée avec Api Staph Médium (Delarras C, 2007).

➤ **Mode d'opérateur**

✓ **Préparation de la galerie**

Réunir fond et couvercle d'une boîte d'incubation et répartir de l'eau dans les alvéoles pour créer une atmosphère humide. Déposer stérilement la galerie dans la boîte d'incubation.



Figure N°12 : Galerie Api Staph.

✓ **Préparation d'inoculum**

A partir d'une colonie jeune on réalise une suspension bactérienne dans l'API Staph Médium.

On prend une goutte d'eau oxygénée (H₂O₂) à 10 volumes qu'on dépose sur une lame avec une colonie bien distincte de culture jeune de 24 h (GARNIER et DENIS, 2007).

➤ **Lecture**

- Apparition des bulles Résultat (+) (catalase +).
- Pas de bulles Résultat (-) (catalase -).

C) Recherche de la coagulase

La coagulase libre est présente chez *S.aureus*, mais aussi peut être produite par *S.intermedius* ou *S.hyicus* .Ce test consiste à mettre en évidence la coagulase libérée dans le milieu extérieur.

La détection de cette coagulase s'effectue en ajoutant dans un tube à hémolyse 0.5 ml de plasma humain et 0.5 ml d'une culture de staphylocoques de 24 h en bouillon .Le mélange est placé à l'étuve à 37°C et est incubé pendant 24 heures (GARNIER et DENIS, 2007).

➤ **Lecture**

Les souches de *S.aureus* provoquant la coagulation du plasma le plus souvent les trois premières heures, Un test positif se traduit par la formation d'un coagulum.



Figure N°14 : Test de catalase.

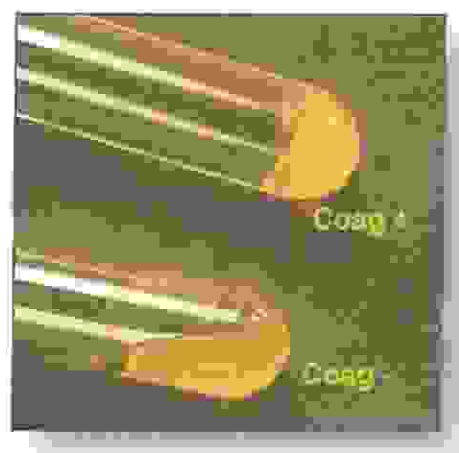


Figure N°15 : Test de coagulase.

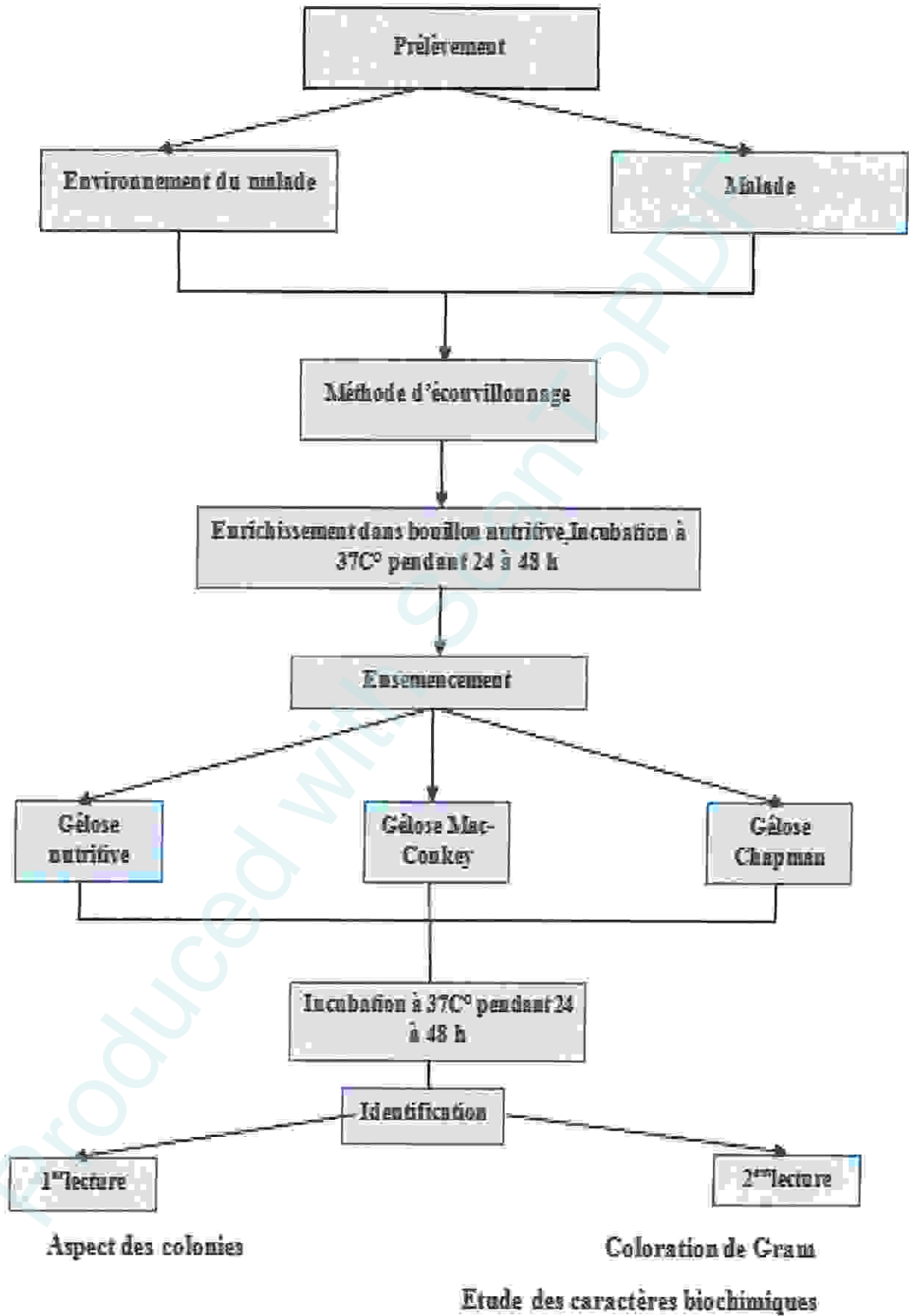


Schéma N°16 : Récapitulatif de la méthodologie de travail.

2-5- Antibiogramme

L'étude de la sensibilité aux antibiotiques a été réalisée par la méthode de diffusion sur milieu gélosé Mueller-Hinton selon les normes et les recommandations du comité de l'antibiogramme de la société française de la microbiologie (CASFM, 2008).

➤ Préparation de l'inoculum

A partir d'une culture pure de 18 H sur milieu d'isolement, racler à l'aide d'une anse de platine quelques colonies bien isolées et parfaitement identiques

-Décharger l'anse dans 5 à 10 ml d'eau physiologique stérile.

-Bien homogénéiser la suspension bactérienne.

➤ Ensemencement

-Tremper un écouvillon stérile dans la suspension bactérienne.

-L'essorer en le pressant fermement (en le tournant) sur la paroi interne en tube, afin de le décharger au maximum ;

-Frotter l'écouvillon sur la totalité de la surface gélosée, sèche, de haut en bas en stries serrées.

-Répéter l'opération deux fois, en tournant la boîte de 60° à chaque fois sans oublier de faire pivoter l'écouvillon sur lui-même

-Finir l'ensemencement en passant l'écouvillon sur la périphérie de la gélose.

➤ Application des disques d'antibiotiques

Presser chaque disque d'antibiotique à l'aide d'une pince bactériologique stérile pour s'assurer de son application. Une fois appliquée le disque ne doit pas être déplacé.

➤ Incubation

-Mettre à l'étuve à 37 °C pendant 18 à 24 h.

➤ Lecture

- Mesurer avec précision, les diamètres des zones d'inhibition.
- Comparer ces résultats aux valeurs critiques figurant dans la table de lecture correspondantes.
- Classer la bactérie dans l'une des catégories : sensible, intermédiaire ou résistantes (12).

Tableau N°05 : Liste d'antibiotiques utilisée.

ATB	Symbole	Charge du disque (μg)	Diamètres critique (mm)	
			R	S
Vancomycine	V	30	≥ 17	-
Erythromycine	ERY	15	≤ 19	≥ 22
Gentamicine	CN	15	≤ 16	≥ 18
Pénicilline	P	6	≥ 8	≤ 29
Triméthoprime	SXT	5	< 12	≥ 16
Chloramphénicol	C	30	≥ 19	< 23
Amoxicilline	AML	25	< 16	≥ 21
Imipénème	IMP	10	< 17	≥ 24
Céfotaxime	CTX	30	< 23	≥ 26

CHAPITRE II :
Résultat

Produced with ScanTOPDF

1-Résultats

1-1-Résultats de l'enrichissement

Après une culture de 24 heures il est constaté un trouble au niveau de tous les tubes.



Figure N°17 : Résultats de l'enrichissement

1-2-Observation macroscopique

Le tableau N°05 et les figures N°18, N°19 et N°20 illustrent le résultat des observations macroscopiques des différentes souches isolées sur les trois milieux de culture.

Tableau N°05 : Résultat d'observation macroscopique.

Site de prélèvement	GN	Chap	MC
Drap	-Petites colonies rondes et Blanchâtre. -Petites colonies plates et jaunâtre.	-Petites colonies bombé, jaunâtre et crémeux, virage de couleur de milieu vers le jaune.	- colonies rose, bombés, crémeux et rondes.
Mur	-Petites colonies transparente, crémeuses, rondes et bombés. -Petites colonies, blanchâtres, virage la couleur de milieu vers le vert.	-	- colonies volumineuses, rondes, Bombés réguliers et roses. -Petites colonies roses et rondes.

<p>Poigné des portes</p>	<p>-Petites colonies, rondes, blanchâtres et plates. -Petites colonies bombé et rondes.</p>	<p>-Petites colonies, blanchâtres et bombé. Virage de couleur vers le jaune.</p>	<p>-Petites colonies, rondes, bombé, crémeuses et roses.</p>
<p>Lit du patient</p>	<p>-Des colonies, rondes plates et blanchâtres.</p>	<p>-Des colonies bombées, crémeuses, dorés et rondes, Virage de couleur vers le jaune.</p>	<p style="text-align: center;">-</p>
<p>Mains du patient</p>	<p>-Petites colonies rondes, blanchâtres bombés et crémeuses. -Petites colonies rondes, couleur jaune et plates.</p>	<p>-Petites colonies blanchâtre.</p>	<p>-Petites colonies blanchâtre, crémeuses bombés et roses.</p>

(-) : Absence de culture

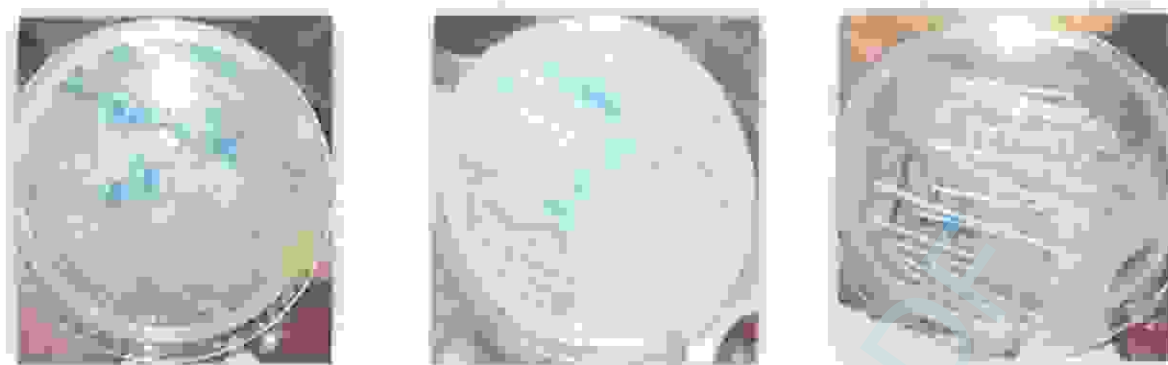


Figure N°18 : Observation macroscopique des bactéries isolées sur GN.

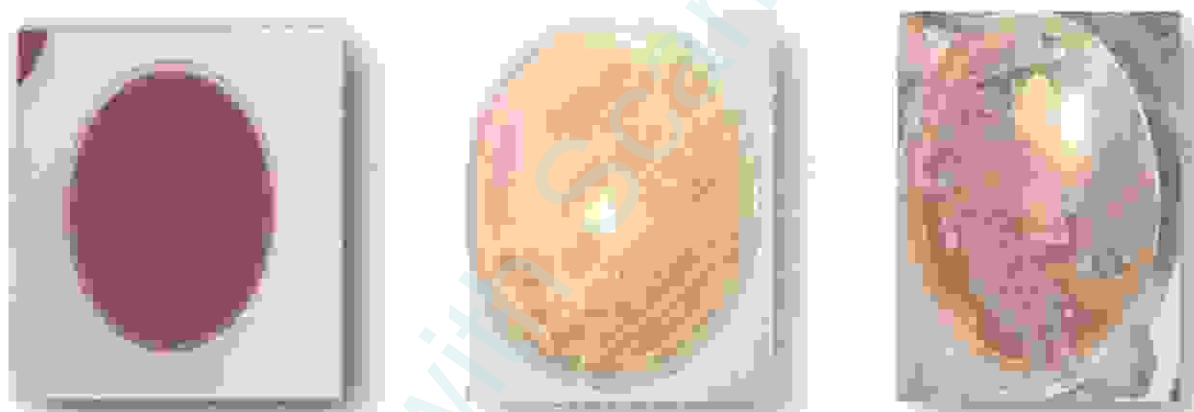


Figure N°19 : Observation macroscopique des bactéries isolées sur MC.



Figure N°20 : Observation macroscopique des bactéries isolées sur CHP.

1-3-Observation microscopique

Le tableau N°06 et les figures N°21 et N°22 font apparaître les résultats de la coloration de Gram.

Tableau N°06 : Observation microscopique.

Sites de prélèvement	Coloration de gram
Drap	Cocci (+) Bacilles (-)
Mur	Bacilles (-)
Poignés des portes	Cocci (+) Bacilles (-)
Lit du patient	Cocci (+)
Mains du patient	Cocci (+) Bacilles (-)

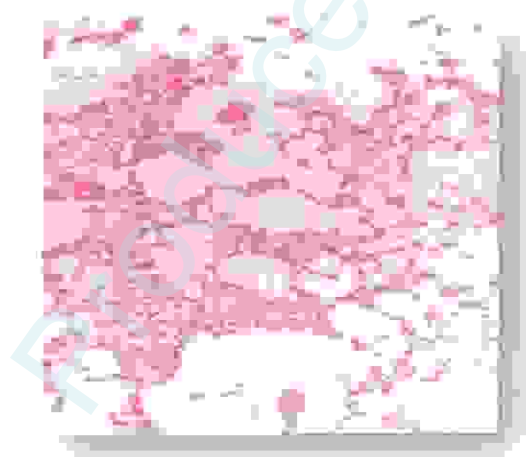


Figure N°21 : Bacille a Gram -

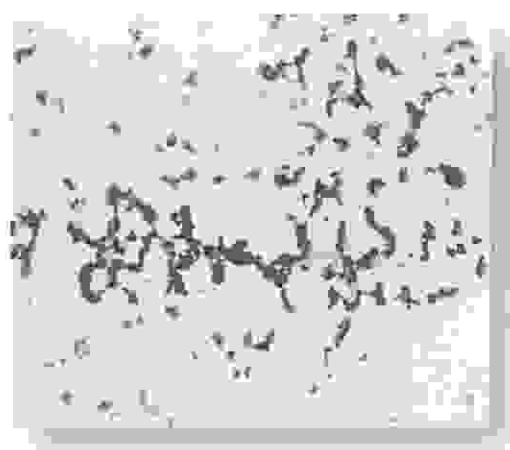


Figure N°22 : Cocci a Gram +

1-4-Identification des entérobactéries

-Identification biochimiques

Le tableau N°07 et les figures N°23, N°24 et N°25 illustrent les résultats de l'identification biochimiques.

Tableau N°07 : Identification biochimique.

Espèce	Tests biochimiques					
	Mannitol	Mobilité	Indole	H ₂ S	Uréase	C.S
E.coli	+	+	+	-	-	-
Proteus vulgaris	-	+	-	+	+	+
Shigella	-	-	+	-	-	-

(+) : Positif.

(-) : Négatif.



Figure N°23 : Galerie biochimique classique pour E. Coli.

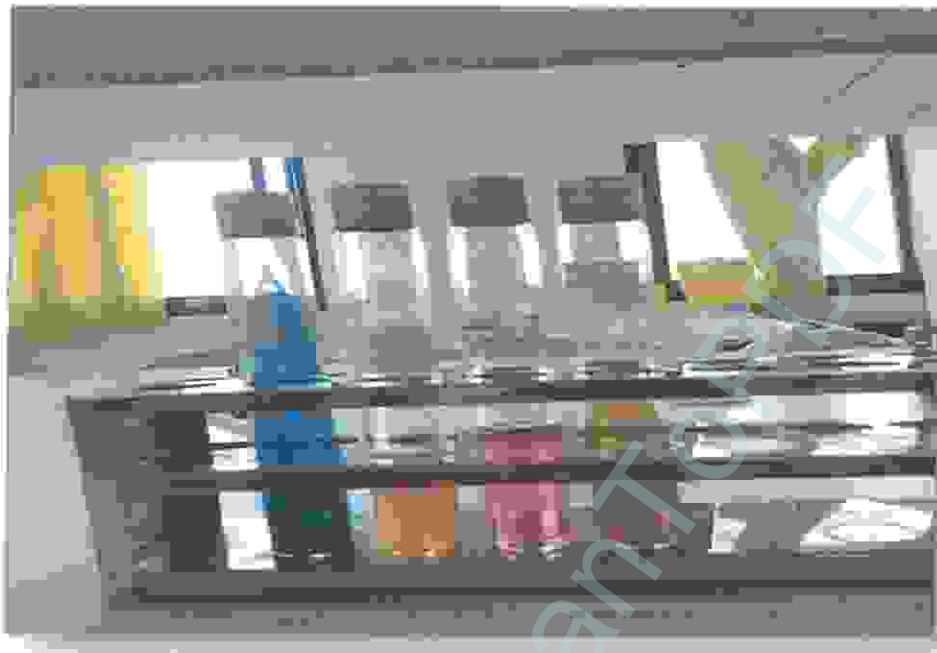


Figure N°24 : Galerie biochimique classique pour *Proteus vulgaris*.



Figure N°25 : Galerie biochimique classique pour *Shigella*.

1-5-Identification de Pseudomonas

-la production des pigments

Les deux milieux King A et King B nous ont permis de mettre en évidence la pyocyanine et la pyoverdine qui colore le milieu de culture.

Tableau N°08 : Identification de Pseudomonas aeruginosa.

Espèce	Test biochimiques	
	King A	King B
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	+	+

1-6-Isolement et identification des Staphylocoques

-Aspect des colonies

Sur le milieu de Chapman, les colonies présentant l'aspect macroscopique caractéristiques du genre *Staphylococcus* ont été prélevées, le développement bactérien sur le milieu de Chapman ne constitue qu'une indication, d'autres bactéries (entérocoques) peuvent y cultiver.

Sur ce milieu, les colonies de *Staphylococcus* apparaissent souvent pigmentées et entourées d'une auréole jaune dans le cas où le mannitol est fermenté, si non les colonies sont de couleur blanche. Les colonies sont arrondies à bords régulier de 1 à 2 mm de diamètre après 48h d'incubation à 37°.

-Coloration de Gram

La coloration de Gram des colonies isolées sur milieu de Chapman, nous a permis de donner l'aspect des bactéries, qui est sous la forme de cocci en grappe de raisin ou en diplocoques.

-Identification biochimique par Api Staph :



Figure N°26 : *Staphylococcus aureus*.



Figure N°27 : *Staphylococcus Epidermidis*.

-Test de catalase

Les tests de catalase étaient positifs pour l'ensemble des bactéries à Gram positif.



Figure N°28 : Production de catalase par les cocci à Gram positif isolés.

-Test de coagulase

Certaines bactéries avaient une coagulase positive, ce qui les caractérise parmi les *Staphylococcus aureus* (Figure30), contrairement aux bactéries à coagulase négative, qui forment le groupe des staphylocoques *Epidermidis* (Figure29).



Figure N°29 : coagulase négative.

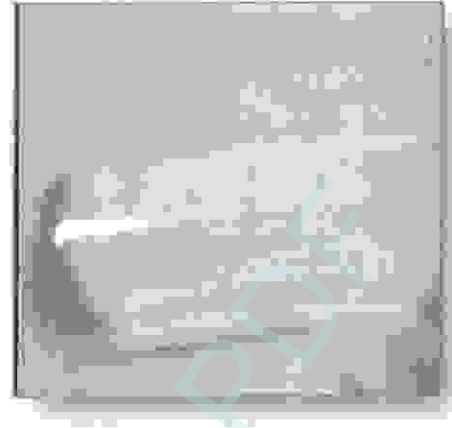


Figure N°30 : coagulase positive.

1-7-Antibiogramme

Tableau N°09 : Résultats du test d'antibiogramme pour *E. coli* et *P. aeruginosa*.

ATB \ Souches	<i>E. coli</i>	<i>P. aeruginosa</i>
Gentamicine	S	S
Chloramphénicol	S	S
Amoxicilline	R	R
Imipénème	R	R
Céfotaxime	R	R
Triméthoprime	R	R

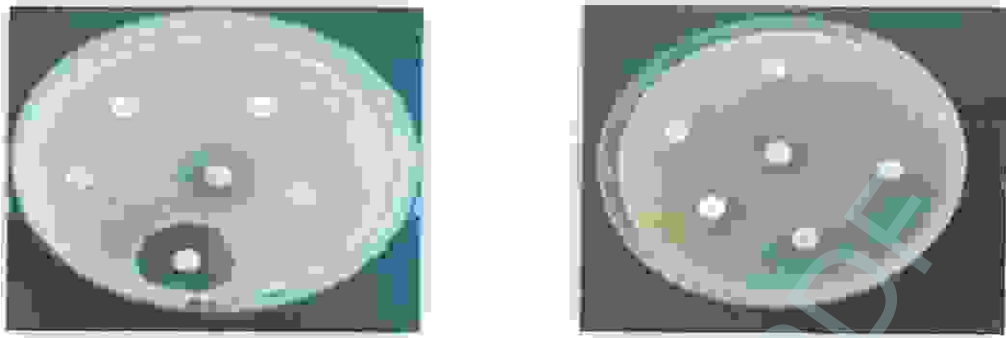


Figure N°31 : Résultats du test d'antibiogramme pour *E. coli* et *P. aeruginosa*.

Tableau N°10 : Résultat du test d'antibiogramme pour *Staphylococcus aureus*.

ATB \ Souche	<i>Staphylococcus aureus</i> ,
Pénicilline	R
Gentamicine	S
Vancomycine	S
Triméthoprim	S
Chloramphénicol	S
Erythromycine	R

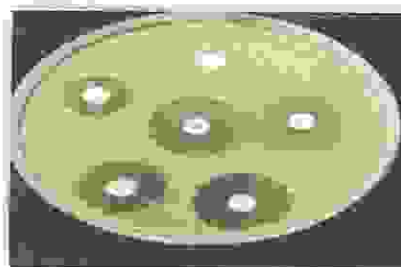


Figure N°32 : Résultats du test d'antibiogramme pour *Staphylococcus aureus*.

❖ Les germes identifiants

Après identification des bactéries présents dans les différents sites de prélèvement, le tableau suivant résumé les résultats trouvés :

Tableau N°11 : Les germes identifiants.

Site de prélèvement	Les germes identifiés
Drap	<i>E.coli</i> <i>Staphylococcus aureus.</i>
Mur	<i>Proteus vulgaris.</i> <i>P. aeruginosa.</i>
Poigné des portes	<i>E.coli</i> <i>Staphylococcus aureus.</i>
Lit du patient	<i>Staphylococcus aureus.</i>
Mains du patient	<i>Shigella.</i> <i>Staphylococcus Epidermidis.</i>

❖ Fréquence des souches isolées

La fréquence des différentes espèces bactériennes en fonction du nombre des prélèvements de surface effectués à partir de l'environnement hospitalier est démontrée dans la (figure 33). Dans un ordre décroissant les fréquences étaient les suivantes : *Staphylococcus aureus* (60%), *E.coli* (40%), *P. aeruginosa* (20%), *Proteus vulgaris* (20%), *Shigella* (20%), *Staphylococcus Epidermidis* (20%).

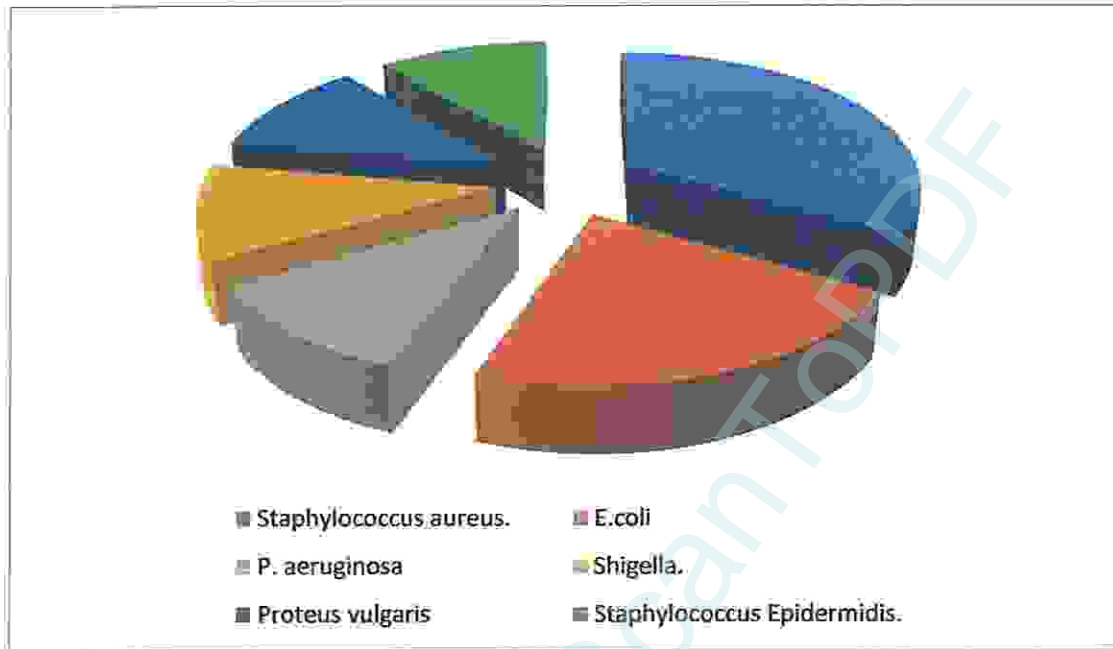


Figure N°33 : Fréquence des souches.

2-Discussion

D'après les résultats obtenus après l'isolement et l'identification des germes responsables des infections nosocomiales en milieu hospitalier au niveau du service des urgences de l'hôpital El Hakim Okbi-Guelma-, il a été trouvé que :

- 1/ *Staphylococcus aureus* en premier lieu avec (60%),
- 2/ En deuxième position vient: *E.coli* avec (40%),
- 3/ Ensuite il y a : *P. aeruginosa* (20%), *Proteus vulgaris* (20%), *Shigella* (20%), *Staphylococcus Epidermidis* (20%) occupant la troisième classe.

Tandis qu'une étude sous le « thème Contrôle de l'état général d'hygiène Au niveau de service des urgences de L'hôpital de Med Boudiaf- » présentées par BOUAZIZ S et RAMDANE A. 2006, de L'Université kasdi Merbali -Ouargla qui ont trouvé :

- 1/-*S.aureus* occupe la première position de l'ensemble des germes isolés avec un pourcentage de 100 %.
- 2/-En deuxième position vient : *Citrobacter* avec 75 %
- 3/-Ensuite il y a : *S.saprophyticus*, *E.coli*, *Pseudomonas*, *Proteus*, *Enterobacter* avec 50 % occupant la troisième classe.
- 4/-Et enfin en dernière classe on a : *S.epidermidis*, *Providencia*, *Serratia* avec 25 %.

Il est remarqué que *S. aureus* est l'espèce prédominante qui occupe 60% de l'ensemble des sites dans notre travail par rapport à 100% de l'étude comparatif, concernant la deuxième position il est trouvés différents germes avec des pourcentages qui différents.

Une deuxième étude sous le thème de « Isolement et caractérisation des bactéries pathogènes nosocomiales dans deux milieux hospitaliers Chlef et Batna » présenté par GRIBI K. 2016, qui a trouvé:

- 1/- Staphylocoques spp, en premier lieu avec (27 %).
- 2/- Pseudomonas spp (15%), vient après avec 75 %).
- 3/- Ensuite il y a : *E.cloacae* et *C.freundii* (4%), *B.cepacia* (2%).

Par comparaison avec la deuxième étude on note une large différence concernant la position et le pourcentage des germes cela revient aux conditions et les sites de travail.

Les résultats obtenus et ceux d'autres études ; il est noté que l'espèce *S.aureus* est prédominante dans la plupart des sites de travail, Cette espèce est une bactérie commensale de l'homme (l'oropharynx...), elle se transmet à l'environnement ; de plus c'est une bactérie de plaie et qui résiste à la dessiccation. Pour les entérobactéries: *E.coli*, *Proteus vulgaris*, *Shigella* elles colonisent l'appareille digestif de l'homme et se transmet à l'environnement. De même ; il est trouvé que *Pseudomonas* qui préfère les milieux liquides et humides.

Conclusion

Produced with ScantopDF

Conclusion

Les infections nosocomiales sont en constante augmentation, avec un coût important, que ce soit financier ou humain, et constituent une préoccupation majeure pour le secteur de la santé publique.

De nombreuses études ont démontré l'importance des surfaces dans les établissements de santé comme facteur de transmission des infections nosocomiales.

Dans ce travail, nous avons tenté d'identifier et de caractériser les bactéries pathogènes présentes sur les surfaces dans le service des urgences de l'hôpital Hkim Okbi –Guelma-. Pour cela nous avons réalisé 5 prélèvements, qui ont été ensemencés sur milieux sélectifs et/ou différentiels, les bactéries ont été ensuite identifiées par une série de tests biochimiques. Nous avons ainsi isolé 9 isolats appartenant à trois genres bactériens différents, *Staphylococcus*, *Pseudomonas*, *Entérobactéries*.

Les différents prélèvements effectués sur l'environnement, le malade montrent que les principaux germes isolés et qui peuvent être en cause des infections nosocomiales sont dominés par : *S.aureus*, *S.Epidermidis*, *E.coli*, *Proteus vulgaris*, *Shigella*, *Pseudomonas aeruginosa*.

La prévention reste le seul moyen pour limiter le risque d'infection nosocomiale. Elle repose sur :

- La mise en oeuvre d'un système de surveillance épidémiologique.
- L'établissement de recommandations écrites précisant les règles d'hygiène et d'asepsie.
- La formation du personnel médical et paramédical et sa motivation qui passe essentiellement par son implication dans les différentes mesures à prendre.
- La définition de bonnes règles de pratique clinique afin de rationaliser l'usage d'antibiotique.

Référence
Bibliographiques

Produced with ScanTOPDF

Référence bibliographique

- AMARA I, KHALDI Z. 2015.** Isolement, identification et étude de l'antibiorésistance des souches bactériennes isolées à partir de services de réanimation et d'hémodialyse de CHU Ouargla. Mémoire du master en Microbiologie Appliquée. Université KASDI Merbah-Ouargla. P : 27.
- ATIF L, BAZAOUCHA A, BOUBECHOU N, BEDDAK M. 2009.** Evolution sur 8 années de la prévalence des infections nosocomiales au centre hospitalier universitaire de Blida, Algérie. *Médecine des maladies infectieuses.* 39 :S31–S33.
- BOUAZIZ S, RAMDANE A. 2005.** Contrôle de l'état général d'hygiène Au niveau de service des urgences de L'hôpital de Med Boudiaf. Mémoire des Etudes Supérieurs en Biologie. Université kasdi Merbah–Ouargla. P : 25-29.
- BOULAHBAL F. 1993.** Microbiologie Clinique S1 .pp : 117.
- CAHAN C, VEZIN C. 2002.** Malin Trop Afrique, Manuel de maladies infectieuses pour l'Afrique Editions John Libbey, Paris. P: 352.
- CA-SFM. 2008.** Comité de l'antibiogramme de la société française de microbiologie. Disponible sur :<http://www.sfm.asso.fr/>
- CHARBONNEAU P et WOLFF M. 2013.** Infectiologie en réanimation. Editions Springer : 432.
- CHARLES N. 2000.** Bactériologie médicale. Masson— Paris. P : 83.
- DELARRAS C. 2007.** Microbiologie pratique pour le laboratoire d'analyses ou de contrôle sanitaire. Lavoisier, Paris. P: 476.
- DUCEL G, FABRY J, NICOLLE L. 2002.** Prevention of Hospital-acquired infections: a practical guide.2nd edition.Geneva, Switzerland: World Health Organization. P: 64.
- EUZEBY J.P. 2004.** Dictionnaire de bactériologie vétérinaire. Klebsiella. France. Sur le lien : <http://www.infotheque.info/cache/93/www.bacterio.cict.fr/bacdico/taxons2004.html>. (Consulté le 15/05/2017)

- FRASER S, AMETT M et SINAVE C.P. 2010.** *Enterobacter* infections. Emedicine specialties. Infectious diseases. Bacterial infections. Contributor information and disclosures.
- GARNIER F, DENIS F. 2007.** Bactériologie médical : Techniques usuelles : Cocci à Gram positif. Masson. Chapitre 29 .251, 254
- GRIBI K. 2016.** Isolement et caractérisation des bactéries pathogènes nosocomiales dans deux milieux hospitaliers Chlef et Batna. Mémoire de master en Microbiologie. Université Hassiba Ben Bouali –Chlef, pp : 1.
- GUERIN MN, GOUYON J. 1993.** Les infections nosocomiales néonatales, LETTRE D'INFECT. 8(10).
- GUELANE-TEBIBLE N, KAHLOUCHE B, ATHMANI –GUMOURI S. 2008.** Microbiologie. Edn 1, office de la publication universitaire, Alger, 99-100.
- HORAN TC, ANDRUS M, DUDECK MA. 2008.** CDC/NHSN surveillance definition of health care- associated infection and criteria for specific types of infections in the acute care setting. Am J Infect Control. 36 : 309-332.
- HYGIS N. 1998.** Hygiène hospitalière [en ligne]. Presses universitaires de Lyon. 86 rue Pasteur-69365 Lyon, pp : 651. Disponible sur : <http://www.books.google.dz>. (Consulté le 13/04/2017)
- JACQUE B. 2003.** Le technicien d'analyse biologique. P : 870.
- JEAN F, GUY L, MICHELE T, 2001.** Microbiologie générale et appliquée. Pp : 18.
- JEAN L.F, JAEN L. Avril 2002.** Bactériologie générale et médicale. pp :199.
- JEAN P. Novembre 2002.** Gaudière « Entre biologistes, militaires et industriels : l'introduction de la pénicilline en France à la libération » La revue pour l'histoire de CNRS, N7.
- LEHOT J, ARVIEUX C. 2010.** Réanimation et urgences. Editions Springer – Verlag France. P: 241,
- LIONEL H. juin 2003.** Hygiène et soins infirmiers .2eme Ed, pp : 6.

Marie-Claude M. 2012. Infection nosocomiale à *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline chez un patient adulte hospitalisé. *Pharmactuel* ; 46 (1) : 23.

MERGOUD L, 2004. Etude bactériologique des bactéries isolées en milieu hospitaliers. Mémoire de magistère en microbiologie appliquée. Université de Badji Mokhtar Annaba.Pp : 2-17.

MEYER A. GOSE D. BERNARD A. 2004. Cours de Microbiologie Générale 2^{em} Ed. P : 349.

Ministère de la Santé de la Population et de la Réforme Hospitalière. (2013). La journée mondiale de l'hygiène des mains.

MONNET T. 2011. Les infections nosocomiales : l'importance d'un suivi épidémiologique et de l'identification rapide des bactéries en cause : exemple de quelques techniques de diagnostic permettant cette identification précoce. Mémoire de Doctorat en Pharmacie. Université JOSEPH FOURIER. P : 21.

OLIVIER L, CLAUDINE D. 2013. Processus inflammatoires et infectieux [en ligne]. Elsevier Masson SAS, 62, rue Camille-Desmoulins, 92442. P : 130. Disponible sur : <http://www.books.google.dz>. (Consulté le 15/05/2017)

Organisation mondiale de la santé (OMS). 2002. Prévention des infections nosocomiales. 2^{em} Ed. P : 4.

OUBIHI B. 2015. Epidémiologie des infections nosocomiales en milieu de réanimation. Mémoire de Doctorat en médecine. Université CADI Ayyad. P : 45.

PAUL G.AMBROSE, ROBERT C. et al. 1998. Antibiotic. Use in the int. Care unit Int. CARE. Clin .14 (2) 283 -308.

PERBERT F. 2003. Maladies infectieuses, toutes les pathologies des programmes officiels des études médicales ou paramédicales. Editions Heures de France, Paris. P : 145.

PILET C, BOURDON JL, TOMA B, MARCHEL N, BALBASTRE C. Bactériologie médicale et vétérinaire. P : 38.

POPI. 1999. Maladies infectieuses. Paris : APPIT. P: 159-169.

SAMOÛ F. 2005. LES INFECTIONS NOSOCOMIALES DANS LE SERVICE DE CHIRURGIE « B » DE L'HOPITAL DU POINT G. Mémoire de Doctorat en Médecine. Université du Mali. P: 42.

SCOTT K., FRIDKIN, STRAROW F., WEBELL A., WEINSTEN. 1999. Magnitude and prevention of nosocomial infections in the intensive care unit. *CRit. CARE. MEd* 24, 5: 1502-1520.

SOUGAKOFF W, TRYSTRAM D. 2003.Résistances aux β -lactamines. Université pierre et marie curie. Faculté de médecine Pitié-Salpêtrière. P : 31-46.

SYLVIE G, HERVE G, MICHELINE L.H, ISABELLE P. Septembre 2002. Nouveau cahier de l'infirmier (hygiène). 2eme Ed, P : 9.

Produced with ScanTopDF

Les Sites Internet

- 1) [http:// www.who.int/topics/risk_factors/fr/](http://www.who.int/topics/risk_factors/fr/) (consulté le 15/03/2017)
- 2) <http://www.chups.jussieu.fr/polys/bactério/bactério/bactério/.pdf> (Consulté le 16/05/2017)
- 3) [http:// www.bacteria.cict.fr/bacdico/systématique/annexen](http://www.bacteria.cict.fr/bacdico/systématique/annexen)(Consulté le 12/04/2017)
- 4) <http://www.utc.fr/tsibh/public/2tsibh/09/projet/groupe/index.html>(Consulté le 19/05/2017)
- 5) http://www2.aclyon.fr/enseigne/biotech/microbio/Milieu_culture/CHAPMAN.htm
(Consulté le 18/3/2017)
- 6) <http://www.microbiologie-medicale.fr/milieuxdisolement/selectifs/gram-gelosemacconkey.htm> (Consulté le 18/3/2017)
- 7) <https://www.grosseron.com/mueller-hinton-gelose-de-51-385-1-851-1-2385.html>
- 8) <http://www.microscopies.com/DOSSIERS/PRACTIQUES/TPM-2/Gram%20.htm>
- 9) <http://www2.ac-lyon.fr/enseigne/biotech/microbio/milieux.html>
- 10) http://www.techmicrobio.eu/documentation_fabricants/Biomerieux%20et%20API/Staphylococcus/API%20Staph.pdf
- 11) <http://www.globe-network.org/modules-elearning/resaolab/resistances-et-antibiogramme/CHAPITRE/chapitre03.swf>

Annexe

Produced with ScanTOPDF

Annexe 01 : Milieux de culture**1. Milieu de Chapman**

Peptone	10.0 g.
Extrait de sodium.....	1.0 g.
Mannitol.....	10.0 g
Rouge de phénol.....	0.025 g.
Agar.....	15.0 g.
PH.....	7, 4.

2. Gélose Mueller-Hinton

Infusion de viande de bœuf.....	300ml
Peptone de caséine.....	17.5g
Amidon de maïs.....	1.5g
Agar.....	10.0g

pH= 7.4

Préparation : 37g par litre d'eau distillée. Stérilisation à l'autoclave à 116°C, 15min.**3. Gélose nutritive**

Peptone.....	10.0g
Extrait de viande.....	5g
Chlorure de sodium.....	5g
Agar.....	10.0g

pH=7.3

Préparation : prêt à l'emploi en petits tubes fins.**4. Gélose Mac Conkey**

Bio-gelytoné.....	17g
Bio-polytone.....	3g
Agar	12g
Lactose.....	10g
Sel biliaires.....	5g
NaCl.....	5g
Rouge neutre.....	0,04g
Eau distilé.....	1000g

pH=7,4

Préparation : Après dissolution tous les ingrédients dans l'eau distillée ajuster le pH 7,4 et stériliser à 121 C° pendant 20 min.

5. Bouillon cœur-cervele (BHIB)

Infusion de cervelle de veau.....	12.5g
Infusion de cœur de bœuf.....	5.0g
Peptone.....	10.0g
Glucose.....	2.0g
Chlorure de sodium.....	2.0g
Phosphatase di sodique.....	5g

pH= 7.4

Préparation : 37g par litre d'eau distillée. Stérilisation à l'autoclave à 120°C, 20min.

6. Bouillon nutritif

Tryptone	10,0 g
Extrait de viande.....	5,0 g
Chlorure de sodium.....	5,0 g

PH du milieu prêt-à-l'emploi à 25°C : 7,2 0,2.

7. King A

Bacto-peptone.....	20g
Agar.....	15g
Glycérol C.P.....	10g
K ₂ HSO ₄ anhydre.....	15g
MgC ₁₂ anhydre.....	1,4g
Eau distillée.....	1000g

8. King B

Proteose peptone (Difco).....	20g
Agar.....	15g

Glycérol C.P.....	10g
K ₂ H ₂ SO ₄ anhydre.....	15g
MgCl ₂ anhydre.....	1,4g
Eau distillée.....	1000g

9-Milieu TSI

Peptone.....	15.0g
Extrait de viande.....	3.0g
Extrait de levure.....	3.0g
Peptone pepsique de viande.....	5.0g
Glucose.....	1.0g
Lactose.....	10.0g
Rouge de phénol.....	0.024g
Chlorure de sodium.....	5.0g
Sulfate de fer 3 - (diagnostic pasteur).....	0.2g
Thiosulfate de sodium.....	0.3g
Agar.....	11.0g
PH 7,5.	

10-Citrate de Simmons

Citrate de sodium.....	1.0g
Bleu de bromothymole.....	0.08g
Chlorure de sodium.....	5.0g
Sulfate de magnésium.....	0.2g
Hydrogénophosphate de potassium.....	1.0g
Dihydrogénophosphate d'ammonium.....	1.0g
Agar.....	15.0g
PH 7,1.	

11-Milieu Mannitol Mobilité

Peptone tryptique de viande.....	20g/l
----------------------------------	-------

Agar.....	4g/l
Mannitol.....	2g/l
KNO ₃	1g/l
Rouge de phénol solution à 1%.....	14ml
PH 7,6-7,8.	

12-Urée- Indole

Urée.....	2.0g
L- tryptophane.....	0.3g
Ethanol à 095.....	1cm ³
Rouge de phénols.....	2.0cm ³
Dihydrogénophosphate de potassium.....	0.1g
Hydrogénophosphate de potassium.....	0.1g
PH 7.	

Annexe 02 : Réactifs**1- Violet de gentiane**

Phénol.....	2.0 g
Violet de gentiane.....	1.0 g
Éthanol à 90°.....	10 ml
Eau distillée.....	100 ml

2- Lugol

Iodure de potassium.....	2.0 g
Iode métalloïde.....	1.0 g
Eau distillée	300 ml

3-Fuschine de ziehl

Fuschine basique.....	1.0g
Phénol.....	5.0 g
Éthanol à 90°.....	10 ml
Eau distillée	100 ml

Produced with ScanTOPDF

Résumé

Les infections nosocomiales sont un problème commun dans les hôpitaux à travers le monde, et sont un problème majeur de santé publique. Les infections nosocomiales contribuent d'une manière significative à la mortalité, morbidité et la prolongation de la durée d'hospitalisation, ainsi qu'à l'augmentation du coût de traitement et la prise en charge des patients.

L'objectif principal de cette étude était d'isoler et de caractériser des bactéries responsables d'infections nosocomiales dans l'environnement hospitaliers au niveau de service d'urgence à l'hôpital d'El Hakim Okbi.

Les résultats obtenus montrent la présence d'une micro flore variée : *E.coli*, *shegilla*, *proteus*, *staphylocoque*, *P. aeruginosa*.

La lutte contre les IN est difficile car elle se doit d'agir sur plusieurs facteurs : qualité des soins, sécurité de l'environnement hospitalier... Sont autant de domaines qui doivent faire l'objet d'une vigilance renforcée et d'action de prévention.

Les mots clés : infection nosocomiale, environnement hospitalier, isolement, identification, Service d'urgence.

Abstract

Nosocomial infections are a common problem in the hospitals throughout the world and a major problem for the public health. They contribute significantly to mortality, morbidity and prolonged hospitals stays of patients, and also increase the cost of hospitalization.

The main objective of this study was to isolation and characterize bacteria responsible for nosocomial infection in the hospital environment in emergency service of El Hakim Okbi.

Results showed the presence of germs following: *E.coli*, *Proteus*, *Shegilla*, *Staphylococcus*, *P.aeruginosa*.

The fight against nosocomial infection is difficult because it must act on several factor: quality of care, safety of the hospital... are all areas that should be of heightened vigilance and preventive measures.

Key words: nosocomial infection, hospital environment, isolation, identification, emergency Service.

المخلص:

عدوى المستشفيات هي مشكلة شائعة في جميع أنحاء العالم، وتعتبر مشكلة صحية عامة رئيسية. عدوى المستشفيات تساهم إلى حد كبير في الوفيات، الأمراض وإطالة الإقامة في المستشفى، فضلا عن زيادة تكلفة العلاج والرعاية للمرضى. كان الهدف من دراستنا هو عزل وتشخيص بعض أنواع البكتيريا المسؤولة عن عدوى المستشفيات على مستوى قسم الإستعجال، بمستشفى الحكيم عقبي.

النتائج المتحصل عليها من خلال هذه الدراسة تبين تواجد هذه الأنواع: *E.coli*, *shegilla*, *proteus*, *staphylocoque*, *P. aeruginosa*.

من الصعب مكافحة عدوى المستشفيات لأنه يجب العمل على عدة عوامل: جودة الرعاية، سلامة البيئة، الخ، وفي كل هذه المجالات ينبغي أن تكون هناك يقظة شديدة وإتخاذ التدابير الوقائية.

الكلمات المفتاحية: عدوى المستشفيات، الوسط الإستشفائي، عزل، تشخيص، قسم الإستعجال.